

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

ROLE DES RÉFLEXES CONDITIONNELS DANS L'IMMUNITÉ

par S. METALNIKOV et V. CHORINE.

L'importance de l'étude des *réflexes conditionnels* a été mise en lumière grâce aux travaux remarquables de J. Pavlow et de ses élèves. Voici en quoi consistent ces réflexes :

Après que Glynsky eut réussi, au Laboratoire de Pavlow, à créer des fistules sur les conduits des glandes salivaires, on a pu suivre exactement le travail de ces glandes.

Wulfsohn a montré l'un des premiers l'influence des centres psychiques sur la sécrétion de la salive. On a commencé ensuite, au laboratoire de Pavlow, une étude systématique et détaillée de ces intéressants phénomènes.

Tolotchinnoff et Babkine ont établi que l'odeur ou l'aspect seul des substances alimentaires provoque, chez les chiens, la sécrétion de la salive qui ne diffère en rien de la salive sécrétée pendant les repas.

Boldyreff, en étudiant la physiologie des glandes salivaires, a montré le premier que chaque excitation externe qui agit simultanément avec les excitations gustatives immédiates, peut devenir ensuite un réflexe indépendant et provoquer à lui seul l'écoulement de la salive.

Ainsi, par exemple, si en excitant les centres gustatifs du chien, on lui fait entendre en même temps un même son, ou si

on lui gratte en même temps la peau dans un même endroit, après toute une série de coïncidences de ces deux sortes d'excitations, il suffit de gratter la peau du chien ou d'émettre le même son qu'auparavant pour déterminer l'écoulement de la salive.

Ainsi des excitations auditives ou mécaniques, qui n'ont rien de commun avec les glandes salivaires et qui n'ont jamais provoqué aucune réaction de leur part, deviennent capables de déterminer l'écoulement de la salive après avoir été combinées plusieurs fois avec des excitations gustatives immédiates. Ce sont les excitations de ce genre que Pavlow a appelées *excitations conditionnelles*, et les réflexes qu'elles provoquent *réflexes conditionnels*.

Boldyrew, Wartanow, Zeleny, Orbeli, Citovitch, ont obtenu de tels réflexes conditionnels pour les sons, les odeurs, les rayons lumineux, le refroidissement ou l'échauffement local de la peau à 50°, etc... (1).

Nous avons essayé d'appliquer la méthode de Pavlow à l'étude de l'immunité.

Dans une série de travaux, nous avons démontré qu'à la base de l'immunité se trouvent les réactions défensives des différentes cellules de l'organisme.

Les réactions défensives peuvent se produire, soit à l'extérieur de l'organisme (sur les muqueuses du nez, des yeux, de la gorge, etc...), soit à l'intérieur (dans le sang, dans les cavités du corps et dans les organes). Ce ne sont pas seulement les cellules libres du sang qui réagissent, mais aussi toutes les autres cellules : cellules conjonctives, réticulo-endothéliales, vaisseaux, glandes hématopoïétiques, nerfs, etc... La formation et la sécrétion des différents anticorps sont aussi des manifestations de ces réactions défensives des cellules (2).

Puisque toutes ces réactions sont involontaires, nous pouvons dire que ce sont des réflexes internes très compliqués. Ces réflexes de défense peuvent varier beaucoup sous l'action de différents excitants, c'est-à-dire des différents microbes, toxines et corps étrangers, introduits dans l'organisme.

(1) CITOVITCH, Origine et formation des réflexes conditionnels. *Thèse Acad. Médec. milit.*, Saint-Petersbourg; J. PAVLOW, Réflexes conditionnels. Contributions à l'étude de la fonction du système nerveux des animaux supérieurs. Pétrograd, 1923.

(2) METALNIKOV et TOUMANOFF. Ces *Annales*, 39 et 40.

Ainsi, en injectant dans le péritoine d'un cobaye une émulsion de microbes donnés, nous pouvons toujours provoquer une réaction typique. La durée et la force de ces réactions dépendent de la quantité et de la qualité des substances injectées.

Nous pouvons répéter ces injections plusieurs fois, nous obtiendrons toujours le même réflexe typique.

Une question se pose : N'est-il pas possible, en répétant 10 à 20 fois de suite ces injections et en les associant à des excitations externes, de créer un réflexe semblable aux *réflexes conditionnels* de Pavlov.

Pour résoudre cette question, nous avons entrepris une série d'expériences sur 24 cobayes.

Chaque cobaye recevait dans le péritoine, tous les jours, une petite dose de tapioca, ou de B. anthracoides, ou des filtrats de staphylocoques. Cette injection était toujours associée à une excitation externe, grattage d'une même région de la peau, ou mise en contact de celle-ci avec une plaque métallique chauffée (1).

Après 15 à 20 injections et excitations externes de ce genre, nous laissons reposer les cobayes pendant douze à quinze jours, jusqu'à ce que l'exsudat de leur cavité péritonéale redevienne normal. Ce jour-là, nous pratiquons plusieurs fois l'excitation externe (grattage ou chauffage), mais nous n'injectons rien dans le péritoine. Ensuite, nous examinons l'exsudat péritonéal plusieurs fois pendant vingt-quatre à quarante-huit heures.

Il convient de rappeler que, chez un animal normal non injecté, l'exsudat péritonéal est transparent et ne contient que de très rares éléments. On y trouve surtout des lymphocytes et monocytes.

Presque aussitôt après l'injection d'une substance étrangère dans le péritoine, les leucocytes apparaissent en grand nombre et ce nombre augmente d'heure en heure.

Ce sont surtout les polynucléaires qui commencent à réagir dans les premières heures après l'injection. Vers la fin du premier et du second jour, le nombre des polynucléaires diminue rapi-

(1) D'après les indications du Professeur Pavlov, les excitations conditionnelles doivent précéder les excitations normales. C'est pourquoi, dans nos expériences, nous faisons nos injections toujours après les excitations externes.

dement. Ensuite, les monocytes apparaissent en grande quantité pour atteindre le maximum vers les troisième et quatrième jours après l'injection.

En dernier lieu, viennent les lymphocytes qui sont le plus nombreux vers les cinquième et septième jours (1).

Voici, pour plus de clarté, les résultats de quelques expériences :

EXPÉRIENCE. I. — Réactions des cellules dans le péritoine du cobaye n° 42 qui a reçu une émulsion de tapioca (2 cent. cubes).

	FORMULE LEUCOCYTAIRE			QUANTITÉ de cellules
	Polynucléaires	Monocytes	Lymphocytes	
Avant l'injection	0	35	65	+
Trente minutes après l'injection.	4	16	80	++
Deux heures après l'injection.	26	14	60	+++
Cinq heures après l'injection	90	8	2	++++
Vingt-quatre heures après l'injection	82	16	2	+++++
Quarante-huit heures après l'injection.	47	35	8	+++++
Trois jours après l'injection.	29	50	21	+++++
Cinq jours après l'injection	12	37	51	+++++

EXPÉRIENCE II. — Le cobaye n° 42 a reçu 21 injections de tapioca.

Chaque fois, avant l'injection, on faisait agir sur la peau une plaque métallique chaude; treize jours après la dernière injection, la même région de la peau était chauffée plusieurs fois.

	FORMULE LEUCOCYTAIRE			QUANTITÉ de cellules
	Polynucléaires	Monocytes	Lymphocytes	
Avant l'excitation	0,6	29	69,6	+
Deux heures après l'excitation	9,3	78,2	12,5	++
Cinq heures après l'excitation.	62	32	6	+++
Vingt-quatre heures après l'excitation.	24,3	53	22	+++

(1) METALNIKOV et TOUMANOFF, Réaction des cellules et phagocytose chez le cobaye normal et immunisé. Ces *Annales*, 1925.

EXPÉRIENCE III. — Le cobaye n° 16 a reçu 18 injections d'une émulsion de B. anthracoides, associées à une excitation externe (chauffage de la peau). Quinze jours après la dernière injection, la même région de la peau était chauffée plusieurs fois.

	FORMULE LEUCOCYTAIRE				QUANTITÉ de cellules
	Polynucléaires	Monocytes	Lymphocytes	Eosinophiles	
Avant l'excitation	0	35	54,5	10,5	6.300
Trois heures et demie après l'excitation	41,6	26,6	20,4	10,8	8.650
Vingt-quatre heures après l'excitation	1,5	30,3	58	15,5	13.300
Quarante-huit heures après l'excitation	0,4	46,9	45,8	7,3	9.500
Trois jours après l'excitation	0,5	50,9	38,8	9,5	11.920

EXPÉRIENCE IV. — Le cobaye n° 98 a reçu dans le péritoine 25 injections d'une émulsion de B. anthracoides associées à une excitation externe (grattage de la peau à côté droit); quinze jours après la dernière injection, la même région de la peau a été grattée plusieurs fois. Ce grattage était répété le lendemain.

	FORMULE LEUCOCYTAIRE				QUANTITÉ de cellules
	Polynucléaires	Monocytes	Lymphocytes	Eosinophiles	
Avant l'expérience.	0	36,6	62,8	0,6	5.000
Trois heures et demie après l'excitation	5,2	50,5	44,1	1,0	9.500
Vingt-cinq heures après l'excitation.	0,8	54,6	43,6	0,9	8.560
Quarante-huit heures après l'excitation	16,1	52,8	27,7	1,1	"
Trois jours après l'excitation	7,0	41	50	2	"
Quatre jours après l'excitation	1,1	12,4	82,3	4,2	"

En examinant les résultats des expériences II, III et IV, nous voyons que les cobayes 42, 98 et 16, qui n'ont rien reçu dans le péritoine, mais qui avaient été excités extérieurement, donnent la même réaction des leucocytes dans le péritoine.

Cette réaction est plus faible et plus passagère que chez l'animal qui a reçu l'émulsion dans le péritoine, mais elle est très démonstrative. Tandis que, chez le cobaye normal, la réaction des monocytes apparaît toujours plus tard (deux et quatre jours), chez les cobayes à réflexes conditionnels les monocytes réagissent souvent plus vite que les polynucléaires (voir expérience II).

Si les excitants externes conditionnels sont capables de provoquer une réaction de défense interne, n'est-il pas possible d'utiliser ces excitants comme moyens de défense contre une infection mortelle?

Pour résoudre cette question, nous avons entrepris une série d'expériences.

EXPÉRIENCE V. — Deux cobayes n^{os} 95 et 96 ont reçu dans le péritoine douze fois les filtrats de staphylocoques associés à une excitation externe (grattage de la peau), dix jours après la dernière injection, la même région de la peau était grattée plusieurs fois.

Le lendemain, les deux cobayes, ainsi qu'un témoin (cobaye n^o 85), reçoivent dans le péritoine des doses mortelles de vibrions cholériques (1/25 de culture sur gélose).

Tandis que le témoin n^o 85 meurt en six heures, les deux cobayes à réflexes conditionnels restent vivants.

EXPÉRIENCE VI. — Deux cobayes, n^{os} 20 et 75, ont reçu dans le péritoine vingt-cinq fois *B. anthracoides* associés à une excitation externe (grattage). Quinze jours après la dernière injection, la même région de la peau était grattée chez le cobaye n^o 20. Le lendemain, les cobayes n^{os} 20 et 75, ainsi que le témoin n^o 48, reçurent une dose mortelle de choléra (1/20 de culture sur gélose). Le témoin n^o 48 meurt après sept ou huit heures.

Le n^o 75, qui n'avait pas été excité, meurt après six heures.

Le n^o 20 meurt après trente-six heures (la dose était trop forte).

EXPÉRIENCE VII. — Deux cobayes, n^{os} 21 et 16, ont reçu dans le péritoine 18 injections de *B. anthracoides* associées à une excitation externe. Dix-sept jours après la dernière injection, les deux cobayes étaient grattés plusieurs fois.

Le lendemain, les cobayes n^{os} 21 et 16, ainsi que le témoin n^o 69, ont reçu une dose mortelle de choléra. Tandis que le témoin meurt, les cobayes n^{os} 21 et 16 restent vivants.

EXPÉRIENCE VIII. — Les deux cobayes n^{os} 21 et 16 sont de nouveau éprouvés (un mois après la dernière injection de choléra). C'est le cobaye n^o 16, seul, qui est exposé à des excitations conditionnelles; le cobaye n^o 21 reste intact. Le lendemain, les cobayes n^{os} 16 et 21 reçoivent dans le péritoine, ainsi que les deux témoins n^{os} 10 et 11, des doses mortelles de streptocoques virulents. Les deux témoins n^{os} 10 et 11 et le cobaye n^o 21 sont morts, le cobaye n^o 16 reste vivant.

De 24 cobayes qui ont été soumis à ces expériences, 10 ont succombé à des causes étrangères aux expériences; sur les 14 qui restent, 10 ont donné des réactions de défense typiques, les 4 derniers ont été indifférents.

Toutes ces expériences nous démontrent que chez les cobayes à réflexes conditionnels, sous l'influence d'un excitant correspondant, peuvent se produire des réactions de défense qui les préservent, dans certains cas, d'une infection mortelle.

Dernièrement, nous avons eu l'occasion de lire le travail du Dr Kryloff, du laboratoire du professeur Pavlow (1), qui confirme et complète nos résultats.

Kryloff a pu démontrer l'existence de réflexes conditionnels dans les phénomènes d'empoisonnement.

En étudiant l'action de la morphine sur le chien, il a remarqué qu'en répétant les injections de morphine plusieurs fois, il ne se produit pas une atténuation ou une accoutumance à ce poison. Au contraire, les phénomènes d'empoisonnement se manifestent beaucoup plus vite et avec plus d'intensité.

Ce fait restait incompréhensible jusqu'au moment où il a pu remarquer que les phénomènes d'empoisonnement apparaissent souvent, même avant qu'on injecte la morphine, c'est-à-dire au moment de la préparation des seringues, etc...

Alors l'idée lui est venue que ce phénomène pouvait s'expliquer par l'existence de réflexes conditionnels. L'expérience suivante a pleinement confirmé cette idée.

Il a pris un chien qu'il injectait sous la peau de la jambe gauche, chaque jour, avec une dose de morphine qui provoquait toujours la maladie typique : vomissements, défécation, sommeil, etc.

Après huit à dix jours, il injecte à ce chien, au lieu de morphine, de l'eau physiologique, et il voit apparaître les mêmes phénomènes d'empoisonnement. En continuant ces expériences encore quelques jours, il parvient à provoquer des phénomènes d'empoisonnement par l'introduction d'une aiguille sous la peau de la jambe, ou en faisant du bruit avec les seringues, etc... Souvent, l'apparition de l'expérimentateur dans la chambre produit le même effet sur le chien.

Toutes ces expériences démontrent que les réflexes conditionnels peuvent jouer un rôle très important, non seulement

(1) Mémoires publiés à l'occasion du jubilé du professeur Pavlow, Pétrograd, 1924.

dans les réactions d'immunité, mais aussi dans différents malaises.

Tout ce qui entoure le malade peut agir comme excitants conditionnels, provoquant la même maladie que la cause primordiale.

De ce point de vue, les sensations de douleur et de malaise peuvent se produire, non seulement sous l'influence d'une cause naturelle (virus, intoxication, etc...), mais aussi par l'action des différents excitants qui s'associent accidentellement pendant la maladie.

Il est possible que dans beaucoup de maladies chroniques et nerveuses (asthmes, troubles cardiaques, névroses, etc...) les accès et les paroxysmes se produisent sous l'influence d'excitants conditionnels qui n'ont rien de commun avec la cause essentielle de la maladie.

Voilà pourquoi il faut traiter tel malade non par un remède quelconque, mais par la suppression des excitants conditionnels qui se créent pendant la maladie.

Un simple changement des conditions de la vie (c'est-à-dire la suppression de quelques réflexes conditionnels) suffit souvent pour produire un effet salutaire sur le malade.

D'un autre côté, pendant la convalescence et l'immunisation se forment aussi des réflexes conditionnels qui sont très utiles, car ils provoquent des réactions de défense.

Comme nous l'avons vu dans nos expériences, ces réflexes conditionnels sont souvent capables de protéger l'organisme contre une infection mortelle et produisent un effet salutaire.

DES RAPPORTS ENTRE LES MOUCHERONS DU GENRE DROSOPHILE ET LES MICROBES DU RAISIN

I. — MUTUALISME A L'ÉGARD DES LEVURES

II. — ANTAGONISME A L'ÉGARD DES MOISSISSURES

par EDM. SERGENT et H. ROUGEBIEF.

I. — DU MUTUALISME ENTRE LES DROSOPHILES ET LES LEVURES

Lorsque Pasteur montra que la fermentation du jus de raisin est due aux levures se trouvant sur la pellicule des grains mûrs, il établit aussi, par sa célèbre expérience des plants de vigne mis sous serre à Arbois, que les levures n'existent pas sur le verjus; elles apparaissent sur les grains seulement au moment de la maturité; elles y viennent par la voie de l'air (1).

On a voulu, plus tard, préciser le mode de transport des levures; deux théories furent émises; celle d'Hansen, admettant que la levure du vin hiberne dans le sol, d'où elle revient sur les fruits par les poussières; celle de Boutroux, Wortmann, Berlese, Grenet indiquant les insectes comme principaux vecteurs.

Au cours des années 1923, 1924, 1925 nous nous sommes également livrés à des recherches sur le mode de transport des levures (2).

Pour définir le rôle qu'il convient d'attribuer respectivement

(1) *Oeuvres de Pasteur*, réunies par PASTEUR VALLERY-RADOT. Fermentations et générations dites spontanées, p. 541 à 545.

(2) EDM. SERGENT et H. ROUGEBIEF, Dissémination des levures dans les vignobles par les insectes. Mutualisme entre levures et Drosophiles. *C. R. Ac. Sc.*, 178, 18 février 1924, p. 732.

Nouvelles expériences sur la dissémination des levures dans le vignoble par les Drosophiles. *C. R. Ac. Sc.*, 180, 30 mars 1925, p. 1078.

De l'antagonisme entre les Drosophiles et les moisissures. *C. R. Ac. Sc.*, 182, 17 mai 1926, p. 1238.

Du mutualisme entre les Drosophiles et les levures de vin. *III^e Congrès intern. d'entomologie*. Zurich, 19-26 juillet 1925.

aux poussières et aux insectes, nous avons fait mûrir des plants de vigne (1) d'une part à l'abri des poussières et des insectes; d'autre part à l'abri des poussières, mais en contact avec des insectes; en troisième lieu à l'abri des insectes, mais en contact avec des poussières.

Le plant devant mûrir à l'abri des poussières et des insectes fut placé sous une cage entièrement vitrée (2): *cage A*.

Le plant devant mûrir à l'abri des poussières mais en contact



FIG. 1. — Les 4 cages d'expérience.

avec des insectes fut placé dans une cage également vitrée, mais munie de nasses permettant d'introduire des insectes: *cage B*.

Le plant devant mûrir à l'abri des insectes mais en contact avec les poussières fut placé sous une cage formée d'un grillage impénétrable aux insectes: *cage C* (3).

(1) Plant de Carignan de sept ans. Ces expériences ont eu lieu à Kouba, près d'Alger, dans le domaine de M. Grellet que nous remercions vivement de son aimable collaboration.

(2) Toutes les cages dont il est question avaient 1 m. 40 de côté.

(3) Les mailles de ce grillage de cuivre avaient 0 mm. 6 d'ouverture.

Des témoins furent constitués en laissant des plants mûrir à l'air libre et aussi en isolant un plant sous une cage formée d'un grillage à mailles assez larges pour laisser passer de nombreux insectes (1).

Au cours de ces expériences nous nous sommes surtout attachés à rechercher où se trouvaient les levures. Pour cela,



FIG. 2. — Cage vitrée.

quand les raisins furent mûrs, nous avons prélevé aseptiquement des grains des raisins de chaque cage ainsi que des raisins des plants témoins. Nous avons immergé ces grains, un à un, dans des tubes de moût stérile et nous avons observé minutieusement quels étaient les grains qui provoquaient des fer-

(1) Ces mailles avaient 1 mm. 6 d'ouverture. Ce grillage était également en cuivre.

mentations, c'est-à-dire qui étaient porteurs de levures. Voici le résumé de nos investigations et de nos constatations :

1^o Recherche de l'influence du défaut à la fois des insectes et des poussières autour des raisins, au moment de la maturation.

Comparaison des raisins mûris à l'abri des insectes et des poussières (dans la cage vitrée sans nasses) avec les raisins mûris à l'air libre, au point de vue de la proportion des grains porteurs de levures dans les deux cas.

Année 1923 (1) : grains prélevés le 15 septembre.

Nombre de tubes de moût contenant chacun 1 grain de raisin provenant de la cage vitrée sans nasses	298
Nombre de tubes ayant montré des fermentations	0
(Ces tubes ont été observés pendant vingt et un jours.)	

<i>Témoin</i> : Nombre de tubes de moût contenant chacun 1 grain de raisin mûri à l'air libre.	470
Nombre de tubes de moût ayant montré des fermentations.	125
(Ces tubes ont été observés pendant vingt et un jours.)	

Année 1924 (2) : grains prélevés le 8 septembre.

Nombre de tubes de moût contenant chacun 1 grain de raisin provenant de la cage vitrée sans nasses.	350
Nombre de tubes de moût ayant montré des fermentations.	0
(Ces tubes ont été observés pendant seize jours.)	

<i>Témoin</i> : Nombre de tubes de moût contenant chacun 1 grain de raisin mûri à l'air libre.	420
Nombre de tubes de moût ayant montré des fermentations	420
(Ces tubes ont été observés pendant seize jours.)	

Au total 648 grains de raisin sur 648, préservés du contact des insectes et des poussières au moment de la maturation sont restés indemnes de tout germe susceptible de provoquer des fermentations, tandis qu'un nombre à peu près égal de grains semblables, mûris en présence des insectes et des poussières, ont eu, presque tous, un dépôt de levures sur les pellicules.

(1) La cage avait été placée sur le plant le 1^{er} juillet, le raisin était encore complètement en verjus : aucune levure n'était déposée sur les pellicules (des grains prélevés à ce moment et immergés en moût stérile ne provoquèrent aucune fermentation).

(2) La cage avait été placée sur le plant le 25 juin. Le raisin était complètement en verjus et aucune levure n'était déposée sur les pellicules (cette absence des levures fut vérifiée comme il est indiqué plus haut pour l'année 1923).

Il apparaît donc clairement qu'il y a une relation entre le défaut des insectes et des poussières autour des raisins et l'absence de levures sur les pellicules de ces fruits.

2° Recherche de l'influence du défaut des poussières seules autour des raisins au moment de la maturation, le contact des insectes étant assuré expérimentalement.

Comparaison des raisins mûris à l'abri des poussières, mais en présence des insectes (dans la cage vitrée à nasses [4]), avec les raisins mûris à l'abri des poussières et des insectes d'une part (dans une des cages vitrées sans nasses), et avec les raisins mûris en contact avec les poussières et les insectes d'autre part (à l'air libre).

Année 1925 : grains prélevés le 25 octobre.

Nombre de tubes de moût contenant chacun 1 grain de raisin provenant de la serre vitrée à nasses	200
Nombre de tubes de moût ayant montré des fermentations	198
(Ces tubes ont été observés pendant seize jours.)	

Nous avons vu plus haut que, au cours des expériences faites pendant les années 1923 et 1924, les grains mûris dans la cage vitrée sans nasses ont tous été indemnes de levures (648 cas observés).

D'autre part, les grains mûris à l'air libre se sont montrés porteurs de levures dans la proportion de 125 pour 170 en 1923, 420 pour 420 en 1924.

Ainsi, tandis que les raisins mûris à l'abri des poussières et des insectes n'ont eu aucune levure déposée sur leurs pellicules, nous voyons que ceux qui ont mûri également sous cage vitrée, qui ont donc été tout aussi bien préservés des causes extérieures de contamination, y compris les poussières, mais qui ont été entourés de Drosophiles, sont devenus porteurs de levures dans une proportion sensiblement aussi grande que les raisins mûris à l'air libre.

(1) Dès que la cage fut placée sur le plant (10 juillet) de nombreux Drosophiles provenant de nos élevages furent introduits dans cette cage, par les nasses aménagées dans ce but; comme ces Drosophiles mouraient en grand nombre dans cette cage surchauffée (la température y étant souvent supérieure à 40°) ils étaient remplacés fréquemment par de nouveaux provenant également de nos élevages.

Donc, quand des contacts d'insectes sont assurés à des fruits au moment de la maturation, le défaut des poussières autour d'eux ne semble pas avoir d'influence défavorable en ce qui concerne les dépôts de levures sur les pellicules de ces fruits. La seule présence des insectes est suffisante pour assurer convenablement la dissémination des levures.

3° Recherche de l'influence du défaut des insectes autour des raisins au moment de la maturation, — l'accès des poussières seules étant rendu possible par une disposition spéciale du grillage de la cage.

Comparaison des raisins mûris à l'abri des insectes, mais en présence des poussières (dans une cage grillagée à fines mailles (1), avec des raisins mûris en présence des insectes et des poussières (dans la cage grillagée à larges mailles et à l'air libre).

Année 1924 (2) : grains prélevés le 8 septembre.

Nombre de tubes contenant chacun 1 grain de raisin provenant de la cage grillagée à fines mailles	500
Nombre de tubes ayant montré des fermentations.	0
(Ces tubes ont été observés pendant seize jours.)	

<i>Premiers témoins</i> : Nombre de tubes contenant chacun 1 grain de raisin provenant de la cage grillagée à larges mailles	550
Nombre de tubes ayant montré des fermentations.	550
(Ces tubes ont été observés pendant seize jours.)	

<i>Deuxièmes témoins</i> : Nombre de tubes contenant chacun 1 grain de raisin mûri à l'air libre.	420
Nombre de tubes ayant montré des fermentations	420
(Ces tubes ont été observés pendant seize jours.)	

Ainsi, 500 grains sur 500, provenant de raisins mûris en présence des poussières, mais à l'abri de tout insecte, se sont montrés parfaitement indemnes de levures tandis que les grains provenant de raisins semblables, mais mûris en présence d'insectes, ont été porteurs de levures dans la proportion de 550 sur 550, pour les témoins provenant de la cage grillagée large,

(1) Les mailles de ce grillage en cuivre avaient 0 mm. 6 d'ouverture, elles arrêtaient tous les insectes y compris les Drosophiles.

(2) En cette année 1924, comme il a été dit plus haut, tous les raisins étaient en verjus et absolument indemnes de levures au moment où les cages furent placées sur les plants.

et dans la proportion de 420 sur 420 pour les témoins mûris à l'air libre.

Nous constatons donc que la présence des poussières a été sans action sur la dissémination des levures; d'autre part, nous avons vu plus haut (paragraphe 2^e) que leur défaut n'a pas eu d'influence défavorable, par rapport à cette dissémination, sur des raisins mis en contact avec des insectes.

Nous concluons que le rôle des poussières est nul en ce qui concerne le dépôt de levures sur les pellicules des raisins tandis que le rôle des insectes est extrêmement important.

*
*

Au cours de ces mêmes expériences, dès l'année 1923, nous avons observé le fait suivant qui frappa notre attention.

Vers le deuxième ou troisième jour après l'immersion des grains dans le moût, dans 14 tubes contenant chacun un grain de raisin mûri à l'air libre et ayant présenté des fermentations, des petites larves apparurent, elles grossirent, pupèrent et donnèrent des insectes adultes du genre *Drosophile* (1).

Dans les tubes n'ayant pas présenté de fermentations, aucun insecte ne s'observa à quelque stade que ce soit.

En l'année 1924, de même, des larves de *Drosophiles* sont apparues et se sont développées de façon semblable :

1^o Dans 173 tubes de moût sur les 350 contenant des grains de raisin provenant de la serre grillagée à larges mailles, d'une part;

2^o Dans 26 tubes de moût sur les 100 contenant des grains de raisin mûris à l'air libre.

Tous ces tubes où naquirent des *Drosophiles* ont montré des fermentations et dans aucun des tubes n'ayant pas montré de fermentation on ne vit de *Drosophiles*.

En l'année 1925 encore des larves de *Drosophiles* s'observèrent dans 12 tubes de moût sur les 200 contenant des grains de raisin provenant de la serre vitrée à nasses, c'est-à-dire renfermant des *Drosophiles*. Ces *Drosophiles* sont apparus de même

(1) Il s'agit de *Drosophila ampelophila* (*melanogaster* Meigen), détermination qu'a bien voulu nous faire M. le Dr Villeneuve.

exclusivement dans les tubes où des fermentations se sont manifestées et il n'en apparut jamais aucun dans des tubes où on ne vit aucune fermentation.

L'intestin d'un grand nombre de *Drosophiles* ayant été examiné, on y trouva des levures d'apparence normale. D'ailleurs Delcourt et Guyénot ont établi que les *Drosophiles* se nourrissent de levures.

Les rapports entre les levures et les *Drosophiles* présentent les caractères d'un véritable mutualisme, c'est-à-dire qu'il y a réciprocité d'avantages pour les deux associés : d'une part, le *Drosophile* répand, avec ses déjections, la levure sur les pellicules des raisins mûrs, qui contiennent un jus éminemment fermentescible. D'autre part, la pullulation de la levure dans le moût en fermentation fournit aux larves de *Drosophiles*, issues des œufs pondus sur les pellicules, les plus larges facilités pour leur développement.

II. — DE L'ANTAGONISME ENTRE LES DROSOPHILES ET LES MOISSURES

Durant les années 1923 et 1924, au cours de nos expériences sur la dissémination des levures dans les vignobles (1), en même temps que nous constations une coïncidence entre leur présence sur les fruits et des traces évidentes du contact des insectes (2), nous observions également que les moisissures se développaient mal, souvent ne se développaient pas du tout sur ces fruits que les insectes avaient visités, tandis qu'elles prenaient une exubérance remarquable chez ceux mûris à l'abri de tout insecte.

De même, au moment des vendanges, nous avons remarqué une vive odeur de fermentation dans une cage (3) où des raisins avaient mûri en présence de *Drosophiles* et une sensible

(1) *C. R. Ac. Sc.*, 178, 18 février 1924, p. 752 et 180, 30 mars 1925, p. 1078.

(2) Un grand nombre des grains de raisins porteurs de levures étaient également porteurs d'œufs ou de larves de *Drosophiles*.

(3) Cette cage était à châssis formés d'un grillage dont les mailles étaient assez larges pour laisser passer quelques insectes, notamment des *Drosophiles*; elles avaient 1 mm. 6 d'ouverture.

odeur de moisi dans des cages (1) où aucun insecte n'avait pénétré (2).

Les raisins ayant été prélevés de ces cages et mis dans des bocaux stériles, on observa que, dans les bocaux contenant les raisins des serres sans Drosophiles (3), les moisissures s'accrurent considérablement, aucune fermentation ne se manifesta, aucun insecte n'apparut. Tandis que, dans les bocaux contenant les raisins de la serre à Drosophiles (4), aucune moisissure ne se développa, des fermentations se produisirent rapidement et de nombreux Drosophiles évoluèrent.

En juin et juillet 1925, ayant mis des fruits (5) qui avaient déjà atteint un certain degré de maturité (6) dans des bocaux : en présence de Drosophiles (7) d'une part (15 bocaux), préservés de tout contact d'insecte d'autre part (15 bocaux témoins), nous avons vu des moisissures apparaître et se développer avec intensité dans ces derniers, tandis qu'il n'en apparut que de très rares et mal venues dans les bocaux renfermant les insectes. Des fermentations se manifestèrent également dans ces derniers bocaux.

Nous avons alors cherché à définir le rôle des insectes sur les fruits au point de vue de l'évolution des moisissures.

I. — Isolement de plants de vigne.

Pour faire mûrir les raisins à l'abri de tout insecte, nous avons isolé deux plants de vigne.

L'un, A, dans une cage entièrement vitrée : cage A.

(1) Ces deux cages étaient, l'une à châssis entièrement vitrés, l'autre à châssis fermés d'un grillage impénétrable aux insectes (0 mm. 6 d'ouverture de maille).

(2) EDM. SERGENT et H. ROUGEIEF, Du mutualisme entre les Drosophiles et les levures de vin. *III^e Congrès international d'entomologie*, Zurich, 19-26 juillet 1925.

(3) La vitrée et la grillagée à fines mailles.

(4) La grillagée à larges mailles.

(5) Nèfles du Japon, cerises.

(6) Avec des fruits (raisins) encore en verjus l'expérience ne réussit pas. Avec des fruits très mûrs elle ne réussit pas davantage, des fermentations s'étant manifestées spontanément dans ce dernier cas.

(7) Ces Drosophiles avaient été élevés au laboratoire, nourris de moût et confitures plus ou moins en fermentation, ils étaient introduits au nombre d'une cinquantaine environ dans chaque bocal.

L'autre, B, sous une cage formée d'un grillage dont les mailles étaient assez fines pour arrêter tout insecte (1) : cage B.

Deux autres plants devant servir de témoins furent aussi isolés.

L'un, témoin de A, sous une cage également vitrée mais aménagée de façon à permettre à volonté l'introduction de *Drosophiles* : cage témoin de A.

L'autre, témoin de B, sous une cage formée d'un grillage dont les mailles assez larges laissaient passer les *Drosophiles* (2) : cage témoin de B.

Les cages furent placées sur les plants le 10 juillet. Le raisin commençait alors à peine à mûrir; des germes de moisissures se trouvaient sur tous les grains, mais une faible proportion d'entre eux, 8 p. 100 seulement, étaient porteurs de levures (3).

Dans la cage témoin de A, des *Drosophiles* (4) furent immédiatement introduits (5).

Dans la cage témoin de B, des *Drosophiles* évolués dans les conditions naturelles (6) pénétrèrent par les mailles assez larges du grillage.

Dans les cages A et B, aucun insecte ne pénétra.

Donc, à partir du 10 juillet jusqu'au 5 novembre (7), il n'y eut aucun insecte autour des raisins du plant A, tandis qu'il y avait de nombreux *Drosophiles* autour des raisins du plant témoin de A.

A tous les autres égards les raisins de ces deux plants se trouvaient dans des conditions absolument identiques.

Il en fut de même en ce qui concernait les raisins du plant B et ceux du plant témoin de B.

(1) Ces mailles avaient 0 mm. 6 d'ouverture.

(2) Les mailles de ce grillage avaient 1 mm. 6 d'ouverture.

(3) 300 grains furent prélevés dans le vignoble où devaient se faire les expériences : on les immergea dans un tube de moût stérile. Il y eut des fermentations dans 24 tubes et des moisissures dans tous.

(4) Ces *Drosophiles* provenaient de nos élevages : ils avaient été nourris de mûts et de confitures plus ou moins en fermentation.

(5) 200 environ : dix jours après nous constatons qu'ils étaient tous morts. Ils furent remplacés. Ensuite, tous les cinq jours, régulièrement, jusqu'au moment des vendanges, une centaine de *Drosophiles* furent apportés dans cette cage.

(6) Il y a lieu de faire observer que le vignoble dans lequel nous avons fait nos expériences est à proximité de nombreuses caves où se fabriquent et se conservent de grandes quantités de vin.

(7) Date des vendanges.

II. — Observation des raisins isolés sur pied.

Le 20 septembre, des différences sensibles existaient déjà entre les raisins de la cage *A* (vitrée sans Drosophiles) et ceux de la cage *témoin de A* (vitrée à Drosophiles). Ces différences s'accrochèrent après de fortes pluies qui eurent lieu les 25, 27, 29 septembre.

En *A*, il y avait une forte odeur de moisi : les raisins étaient presque tous verts encore, beaucoup étaient recouverts de nombreuses moisissures extrêmement développées, duveteuses, hautes, s'étendant en larges plaques.

Dans la cage *témoin de A* : l'odeur de moisi était beaucoup moins sensible, les raisins étaient plus mûrs (1) qu'en *A*, les moisissures plus rares, surtout leur développement était bien moindre ; elles se réduisaient à quelques points blancs d'aspect pulvérulent.

Ces différences se sont maintenues d'une façon à peu près constante aussi longtemps que les raisins furent sur pied.

Il fut impossible, tant que les cages restèrent sur les plants *B* (2) et *témoin de B* (3), d'apprécier quelles différences pouvaient exister entre les raisins de ces plants, car les grillages les masquaient entièrement.

C'est le 5 novembre que les vendanges eurent lieu. Voici les principales constatations faites à ce moment au sujet de chacune des cages :

1° Dans la vitrée *A* : absence d'insectes ; odeur de moisi, raisins peu mûrs, mal venus, d'un aspect blanchâtre, présentant quelques moisissures assez développées (4) ;

2° Dans la vitrée *témoin de A* : Drosophiles assez nombreux ; odeur de fermentation sensible ; raisins plus sains, plus mûrs qu'en *A* ; quelques grains pourris, traces infimes de moisissures.

3° Dans la grillagée à fines mailles, *B* : conditions très semblables à celles de *A* : absence de Drosophiles, raisins peu

(1) Ils étaient moins mûrs toutefois que ceux mûris à l'air libre.

(2) A Drosophiles.

(3) Sans Drosophiles.

(4) Moins toutefois que celles observées en septembre.

mûrs (1), moisissures nombreuses et bien développées sur des raisins tassés au bas du plant.

4° Dans la grillagée à larges mailles, *témoin de B* : *Drosophiles* nombreux, moisissures extrêmement rares, raisins très mûrs, luisants, mouillés, d'un rouge vineux, donnant l'impression d'être déjà le siège de fermentations. Beaucoup de grains étaient vides; presque tous portaient de nombreux œufs et larves de *Drosophiles*.

III. — Observation des raisins isolés après leur prélèvement en bocaux stériles.

Les raisins des quatre cages furent prélevés en bocaux stériles : il y eut 15 bocaux de raisins de chaque cage.

Ces bocaux furent examinés un à un quotidiennement; voici ce qui fut remarqué :

1° Bocaux contenant les raisins de la serre vitrée *A sans Drosophiles*.

Le tiers environ des grains étaient moisis : presque tous étaient vert rosé, flasques, mal venus. Il n'y avait aucun *Drosophile* dans les grappes, ni aucun œuf, ni aucune larve. Dès le cinquième jour de la mise en bocal les moisissures prirent un développement remarquable; vers le treizième jour, la plupart des bocaux, 10 sur 15, ne présentaient plus qu'un amas informe de moisissures : les végétations mycéliennes, hautes, fructifiées, remplissaient ces bocaux. Vers le trentième jour, elles se flétrirent et se réduisirent peu à peu à l'état de croûte. A aucun moment on n'observa de fermentation ni l'apparition de *Drosophiles*.

2° Bocaux contenant les raisins de la serre vitrée, *témoin de A, à Drosophiles*.

Le trentième environ des grains étaient moisis. La plupart des autres grains étaient rouge-noir, mieux venus que ceux de la serre vitrée sans *Drosophiles*. On vit des *Drosophiles* adultes dans 10 bocaux sur les 15 en observation : c'est dans ces bocaux-là surtout que les fermentations se développèrent rapidement et que les moisissures régressèrent. Néanmoins, dans les autres bocaux également, un peu plus tardivement toutefois, des fermentations se produisirent et les moisissures diminuèrent aussi très sensiblement.

(1) Un peu plus toutefois que les raisins de *A*.

3° Bocaux contenant les raisins de la cage *B* grillagée à fines mailles, *sans Drosophiles*.

Le dixième environ des grains étaient moisiss, il n'y avait aucun *Drosophile* dans les grappes, ni aucun œuf, ni aucune larve. Dès le cinquième jour de la mise en bocal, les moisissures avaient pris un développement extrême, ce développement s'accroissait continuellement jusque vers le trente-cinquième



FIG. 3. — Raisins des serres vitrées.

Raisin de gauche : mûri, du 10 juillet au 5 novembre 1925, dans une serre vitrée (*A*) où n'existait aucun insecte. Vendangé le 5 novembre. Mis dans un bocal stérile où il fut laissé tel quel, du 5 au 30 novembre. Sorti du bocal et photographié à cette date.

Raisin de droite : mûri, du 10 juillet au 5 novembre 1925, dans une serre vitrée (*Témoin de A*) où des *Drosophiles* de nos élevages étaient introduits. Vendangé le 5 novembre. Mis dans un bocal stérile où il fut laissé tel quel, du 5 au 30 novembre. Sorti du bocal et photographié à cette date.

On peut voir plusieurs larves de *Drosophiles* sur les grains de cette grappe de raisin.

jour environ ; puis, les milieux étant desséchés, les moisissures se flétrirent peu à peu et disparurent. Aucune fermentation ne se manifesta, aucun *Drosophile* n'apparut.

4° Bocaux contenant les raisins de la serre *témoin de B*, grillagée à larges mailles, *renfermant des Drosophiles*.

Une infime proportion des grains étaient moisis, presque tous étaient très noirs, très mûrs; un assez grand nombre étaient complètement vides. Dans toutes les grappes il y avait des *Drosophiles* adultes. Les pupes, larves, œufs, étaient extrêmement nombreux sur les pellicules et à l'intérieur des grains vides. Cinq jours après la mise en bocal on remarquait partout une régression complète des moisissures. D'abondantes fermentations étaient développées et les *Drosophiles* à tous les stades étaient de plus en plus nombreux. Longtemps après, vers le trente-cinquième jour de la mise en



FIG. 4. — Raisins des serres grillagées.

Raisin de gauche : mûri, du 10 juillet au 5 novembre 1925, dans une serre grillagée (B) où n'existait aucun insecte.

Vendangé le 5 novembre. Mis dans un bocal stérile où il fut laissé tel quel, du 5 au 30 novembre. Sorti du bocal et photographié à cette date.

Raisin de droite : mûri, du 10 juillet au 5 novembre 1925, dans une serre grillagée (Témoin de B), où des *Drosophiles* ont pénétré par les nasses. Vendangé le 5 novembre. Mis dans un bocal stérile où il fut laissé tel quel du 5 au 30 novembre. Sorti du bocal et photographié à cette date.

bocal, comme les milieux se desséchaient, tous les *Drosophiles* moururent. Quelques rares traces de végétation mycélienne réapparurent aux points les plus secs (grains de raisin du sommet du bocal).

IV. — Observation des raisins isolés après immersion en moût stérile.

Au moment des vendanges également, 100 grains de raisin de chacune des cages furent prélevés et mis un à un dans des tubes de moût stérile : ces tubes furent observés quotidiennement pendant trente jours.

Voici le tableau des observations faites à leur sujet.

a) Tubes contenant les grains de raisin de la cage vitrée A, sans *Drosophiles*. 100 grains dans 100 tubes de moût stérile.

Moisissures : dans 100 tubes sur les 100 (plaques vers le deuxième jour, se développèrent abondamment, étaient très belles encore le trentième jour).

Gaz + dans 6 tubes sur les 100 [s'observèrent vers le huitième jour] (1).
Larves = 0.

b) Tubes contenant les grains de raisin de la cage vitrée témoin de A, renfermant des *Drosophiles*. 100 grains dans 100 tubes de moût stérile.

Moisissures : dans 100 tubes sur les 100 (traces apparurent vers le troisième jour, se développèrent peu et devinrent gélatineuses vers le quinzième jour).

Gaz + dans 94 tubes sur les 100 (s'observèrent vers le cinquième jour, cessèrent vers le dixième).

Larves + dans 6 tubes sur les 100.

c) Tubes contenant les grains de raisin de la cage grillagée à fines mailles, B, sans *Drosophiles*.

Moisissures : dans 100 tubes sur les 100 (plaques vers le deuxième jour se développèrent abondamment, étaient très belles encore le trentième jour).

Gaz + dans 5 tubes sur les 100 (s'observèrent vers le dixième jour).

Larves = 0.

d) Tubes contenant les grains de raisin de la cage grillagée à larges mailles, témoin de B, renfermant des *Drosophiles*.

(1) Nous avons signalé qu'au moment où les cages furent placées sur les raisins les grains de ceux-ci étaient porteurs de levures dans la proportion de 3 p. 100.

Moisissures + dans 100 tubes sur les 100 (traces apparues vers le troisième jour, diminuèrent et devinrent gélatineuses vers le quinzième jour).

Gaz + + + dans 100 tubes sur les 100 (observés vers le troisième jour).

Larves + dans 11 tubes sur les 100.

Ainsi, au cours de toutes nos expériences, nous avons constaté que le contact des *Drosophiles* avec les fruits a eu pour effet de produire un dépôt de levures sur ces fruits et d'y empêcher le développement de végétations mycéliennes. Nous avons observé aussi que la présence des germes de moisissures est constante sur les fruits (1).

D'autre part, la réapparition de végétations mycéliennes aux points desséchés des milieux fermentants ainsi que le développement de traces de ces végétations en moût stérile ensemencé de grains porteurs de levures ont démontré que les germes de moisissures peuvent coexister avec les levures; c'est le développement des végétations mycéliennes qui semble être sous la dépendance de la pullulation des levures dans un même milieu et ne se manifester que dans des limites inversement proportionnelles à l'intensité de cette pullulation.

Ainsi en réglant convenablement le processus de la fermentation dans des milieux ensemencés de moisissures, nous avons pu graduer le développement de leurs végétations et même arriver à les supprimer complètement.

Nous avons pris des tubes de moût stérile ensemencés chacun avec deux grains de raisin de la serre vitrée (2) [*sans Drosophiles*].

Après cet ensemencement :

25 tubes restèrent tels quels pour servir de témoin. *Série A* (ils ne montrèrent jamais aucun dégagement gazeux).

(1) Quand aucune action empêchante n'a existé, tous les tubes de moût stérile ensemencés de grains de raisin ont montré au moins des traces de moisissures. D'ailleurs nous avons constaté de même cette présence sur toutes les substances où nous avons cherché à la déceler, ainsi : de la terre, de l'écorce de vigne, des feuilles de vigne, des feuilles d'arbre, mises dans des tubes de moût stérile provoquèrent, dans tous les cas, l'apparition de nombreuses moisissures.

Exemple :

Terre vignoble en moût stérile	10 t. : M. + + + dans 10; Gaz + dans 2.
Ecorce de vigne en moût stérile	25 t. : M. + + + dans 25; Gaz + dans 3.
Vieilles feuilles de vigne en moût stérile	25 t. : M. + + + dans 25; Gaz + dans 3.
Nouvelles feuilles de vigne en moût stérile . . .	25 t. : M. + + + dans 25; Gaz 0.
Ecorce d'arbre en moût stérile	10 t. : M. + + + dans 10; Gaz + dans 1.

(2) Il avait été vérifié que tous ces grains étaient porteurs de germes de moisissures.]

25 tubes reçurent 1 cent. cube de levures de laboratoire non en activité.
Série B (ils montrèrent un dégagement gazeux le cinquième jour).

25 tubes reçurent 5 cent. cubes de levures de laboratoire non en activité.
Série C (ils montrèrent un dégagement gazeux le troisième jour).

25 tubes reçurent 1 cent. cube de levures de laboratoire en activité.
Série D (ils montrèrent un dégagement gazeux au bout de quarante-huit heures).

25 tubes reçurent 5 cent. cubes de levures de laboratoire en activité.
Série E (ils montrèrent un dégagement gazeux au bout de trente-six heures).

25 tubes reçurent 5 cent. cubes de levures de laboratoire en activité et furent mis à l'étuve à 36° (1). *Série F* (ils montrèrent un dégagement gazeux au bout de dix heures).

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Dans les 25 tubes série A . . Développement extrême des moisissures.
 Dans les 25 tubes série B. . . Développement beaucoup moindre qu'en A.
 Dans les 25 tubes série C. . . Développement encore moindre qu'en B.
 Dans les 25 tubes série D . . Développement peu sensible.
 Dans les 25 tubes série E . . Développement presque nul.
 Dans les 25 tubes série F. . . Développement absolument nul.

V. — Effets d'apports de Drosophiles sur des moisissures en plein développement.

Nous avons ensuite cherché comment pouvaient se comporter les moisissures en plein développement quand, dans des milieux où ces moisissures végétaient, des Drosophiles étaient introduits (2).

1° Apport de Drosophiles adultes sur des raisins moisis :

Nous avons pris 10 grappes de raisins très uniformément moisis (3); nous avons divisé chaque grappe en 2 parts; une part témoin fut introduite dans un bocal stérile et laissée telle quelle; l'autre part, introduite également dans un bocal stérile, fut entourée de nombreux Drosophiles (4). Vers le cinquième jour les moisissures avaient sensiblement régressé chez 4 parts sur les 10 entourées de Drosophiles, puis le douzième jour ces 4 parts étaient complètement dépouillées de moisissures et

(1) 10 tubes témoins, ensemencés de moisissures, également mis à l'étuve, montrèrent des végétations abondantes.

(2) Drosophiles provenant de nos élevages, c'est-à-dire nourris avec des milieux (moût, confiture) plus ou moins en fermentation.

(3) Ces raisins provenaient de la serre vitrée sans Drosophiles, ils avaient donc mûri à l'abri de tout vecteur de levure.

(4) Toujours Drosophiles provenant de nos élevages, c'est-à-dire nourris avec des milieux plus ou moins en fermentation.

avaient repris une apparence presque saine. Chez les 6 autres parts les moisissures régressèrent aussi très sensiblement, mais ne disparurent pas complètement. Dans le même temps, chez toutes les parts témoins, isolées de tout contact d'insectes, le développement des moisissures fut constant et même augmenté



FIG. 5. — Raisin ayant mûri, du 10 juillet au 5 novembre 1923, dans une serre vitrée (A) sans *Drosophiles*. Vendangé le 5 novembre et mis dans un bocal stérile où il est laissé tel quel, du 5 au 15 novembre. A cette date ce raisin est complètement et *très uniformément* recouvert de moisissures. Prélevé le 15 novembre il est divisé en deux parts : a et b.

L'une a est mise dans un bocal stérile ne contenant aucun insecte.

L'autre b dans un bocal où une centaine de *Drosophiles* adultes sont introduits (Ces *Drosophiles* vivent dans le bocal en contact avec la portion b du raisin du 15 au 30 novembre. Ils déposent des œufs sur les grains. Quelques larves y apparaissent).

Le 30 novembre chaque part est prélevée des bocaux et photographiée :

La part a qui a toujours été préservée de tout contact d'insectes est à gauche de la photographie ;

La part b qui a été mise en contact avec des *Drosophiles*, du 15 au 30 novembre, est à droite.

dans certains cas. Nous avons remarqué que la régression des moisissures au contact des *Drosophiles* a été d'autant plus

rapide et complète que les milieux étaient plus humides : les gros grains très mûrs, gonflés de suc, à pellicule fine furent les premiers sur lesquels les moisissures diminuèrent et ce fut sur ceux-ci aussi qu'elles disparurent complètement; sur les grains moins mûrs et moins humides la régression fut plus lente et moins complète; sur les grains secs, elle fut nulle, les moisissures se flétrirent simplement.

5 grains de chacune de ces parts de raisins dépouillées de moisissures furent prélevés et mis un à un dans des tubes de moût stérile (1); ils provoquèrent dans tous ces tubes l'apparition de traces de moisissures dès le deuxième jour, puis des fermentations se manifestèrent (2).

2° *Apport de levures dans du moût recouvert de moisissures :*

Dans des tubes de moût, ayant de belles moisissures à leur surface (3), nous avons propagé des levures (4) :

a) En ensemençant le liquide avec des levures de laboratoire dans 25 tubes;

b) En mettant des *Drosophiles* adultes de nos élevages dans 25 tubes (5);

c) En mettant des larves de *Drosophiles* de nos élevages dans 25 tubes (6).

Des fermentations se développèrent :

a) Dans tous les tubes : dès le troisième jour;

b) Dans 1 tube : dès le quinzième jour;

Dans 3 tubes : dès le vingt-cinquième jour;

c) Dans 3 tubes : dès le dixième jour;

Dans tous les tubes : dès le vingt-cinquième jour.

Dans tous ces tubes où des fermentations se développèrent,

(1) 5 grains de raisin de chaque part, soit 50 grains au total.

Un nombre égal de parts témoins ayant été ensemençées dans les mêmes conditions provoquèrent l'apparition de moisissures, mais aucune fermentation ne s'observa.

(2) Par là nous avons une nouvelle preuve de l'antagonisme des levures et des végétations mycéliennes et aussi de la coexistence des germes de moisissures et des levures dans un milieu.

(3) Ces tubes de moût avaient été ensemençés en octobre 1925 avec des grains de raisin de la serre vitrée sans *Drosophiles*, ils n'avaient jamais présenté la moindre trace de fermentation.

(4) Au début de février 1926.

(5) Ces *Drosophiles* se tiennent dans la partie du tube qui se trouve au-dessus du niveau du liquide.

(6) Ces larves furent déposées sur la couche des moisissures.

les moisissures disparurent peu à peu : elles se flétrirent, devinrent gélatineuses et tombèrent au fond du tube où elles subirent une espèce de digestion : cette régression se produisit en même temps que les fermentations se développaient. Il y a lieu de noter que c'est dans les tubes renfermant des larves que la disparition des moisissures fut la plus générale, rapide et complète : là elle précéda l'apparition du dégagement gazeux au sein du liquide, confirmant ainsi que les larves de *Drosophiles* peuvent se nourrir de moisissures.

3° *Apport de larves de Drosophiles sur des milieux de culture artificiels ensemencés avec des moisissures :*

Sur des tubes de gélose sucrée stérile, l'adjonction de larves à des cultures de moisissures fait rapidement disparaître celles-ci, tandis que les tubes témoins, sans larves, se couvrent d'une épaisse couche de moisissures.

Ainsi nous concluons qu'au cours de nos expériences un antagonisme évident s'est manifesté entre le développement des végétations mycéliennes et la pullulation dans le même milieu des levures, qui, dans la nature, sont apportées par les *Drosophiles*.

*
* *

Nous pouvons dire en résumé :

Drosophiles et levures vivent en association étroite dans les vignobles, à leur avantage réciproque; les *Drosophiles* transportent les levures sur les fruits quand ils sont arrivés à maturité, c'est-à-dire au moment où le jus sucré de ces fruits constitue un milieu favorable à la pullulation des levures; celles-ci à leur tour, se multipliant intensément dans le suc des fruits qu'elles font fermenter, fournissent aux larves de *Drosophiles* une nourriture de choix.

D'autre part les spores des moisissures qui se trouvent partout sur le sol, les tiges, les feuilles, les fruits se mettent à végéter dès que les conditions deviennent favorables. Elles se propageraient vite sur les fruits mûrissant; mais, à cette époque de la maturation, précisément, les *Drosophiles* sont attirés autour des fruits et y déposent leurs œufs et des levures. Or le développement des végétations mycéliennes est empêché sur

les fruits où vivent des larves de *Drosophiles* et où pullulent des levures.

Ainsi, grâce aux *Drosophiles* et aux levures qu'ils apportent, l'envahissement des fruits par les moisissures est limité. La multiplication des moisissures et le processus d'évolution des *Drosophiles* sont en antagonisme, d'une façon évidente.

(Institut Pasteur d'Algérie.)

SUR LA FRÉQUENCE ET LES MODALITÉS DU CANCER CHEZ LES ANNAMITES DE COCHINCHINE

par J. BABLET.

(*Institut Pasteur de Saïgon.*)

Le développement de l'Assistance médicale dans nos colonies, le perfectionnement des moyens de transport, la confiance grandissante des indigènes permettent aujourd'hui d'étendre aux régions tropicales l'enquête sur le cancer méthodiquement organisée dans les pays d'Europe. Les recherches récentes ont démontré la sensibilité au cancer des races à peau pigmentée que des travaux superficiels avaient amené à considérer comme réfractaires. Une enquête approfondie sur la fréquence et la variété des tumeurs malignes sous les tropiques était indiquée, et la Cochinchine, avec son riche réseau de routes et de voies navigables, l'installation moderne de ses formations sanitaires déjà nombreuses, s'y prêtait tout particulièrement : il nous a paru opportun de rassembler dans une étude d'ensemble les données acquises sur le cancer dans l'Indochine méridionale et les résultats de recherches personnelles et récentes.

*
*
*

L'étude rétrospective de la morbidité et de la mortalité cancéreuse en Cochinchine au cours des dernières années doit s'appuyer exclusivement sur les statistiques (1) de l'Assistance médicale indigène. Or celles-ci groupent des documents de valeur inégale : examens cliniques plus ou moins rapides et complets, constatations opératoires souvent exclusivement macroscopiques, diagnostics *post mortem* avec ou sans autopsie.

(1) Ces statistiques ont été aimablement mises à notre disposition par M. le médecin principal Lecomte, directeur du Service de Santé de la Cochinchine.

Les chiffres donnés demeurent discutables. Ils nous apportent cependant des renseignements intéressants sur la morbidité globale, sur la fréquence relative des diverses localisations cancéreuses, sur la sensibilité comparée des deux sexes, sur l'âge moyen des malades, sur la mortalité.

Il suffisait du reste, pour donner plus de poids aux statistiques de cancéreux et en faciliter l'interprétation, de les confronter avec celles des victimes de deux autres grands fléaux sociaux de l'Extrême-Orient, la tuberculose et le béribéri, observés dans les mêmes conditions.

De 1919 à 1923, nous relevons sur le rapport annuel d'ensemble des formations sanitaires de l'Assistance 2.066 entrées pour cancer. Pendant la même période de cinq années, 4.564 tuberculeux et 6.286 béribériques ont été hospitalisés. Ces chiffres représentent : pour le cancer 0,84 p. 100 de l'ensemble des entrées, pour la tuberculose 1,88, pour le béribéri 2,74.

Il est intéressant de constater que les cancéreux sont, à l'hôpital, à peine deux fois moins nombreux que les tuberculeux et que leur chiffre atteint le tiers de celui des béribériques. Les ravages de la tuberculose et du béribéri en Indochine sont trop connus pour qu'il soit nécessaire d'insister sur la valeur de ce rapprochement.

D'autre part, sur la totalité des décès pendant la même période 1919-1923, la part du cancer serait de 1,2 p. 100, celle de la tuberculose 8 p. 100, celle du béribéri 7,2 p. 100. La mortalité cancéreuse serait donc très inférieure à la mortalité pour tuberculose ou béribéri. En réalité ces pourcentages donnent une idée fausse de la gravité du cancer, car ils ne tiennent pas compte des cancers inopérables (qu'on ne garde pas à l'hôpital), ni des récidives mortelles après ablation chirurgicale et retour du malade à son domicile.

*
* *

Il peut paraître prématuré d'établir sur des bases aussi fragiles le chiffre de la morbidité et de la mortalité cancéreuse par rapport à la population totale. Le recensement de celle-ci n'est pas encore d'une exactitude rigoureuse et d'autre part les

tumeurs malignes, observées dans les hôpitaux, ne représentent qu'une faible partie de la totalité des cancers. (Beaucoup de cancers viscéraux, notamment à évolution lente et silencieuse, peuvent passer inaperçus.) Les chiffres qui suivent ne sauraient donner de la fréquence du cancer en Cochinchine qu'une idée approximative.

Si l'on rapporte les cas de cancer observés par l'Assistance médicale indigène à la population totale de Cochinchine accusée par les recensements faits à la même époque, on trouve pour la période 1919-1923 et pour 10.000 habitants 5,8 cancéreux et 0,47 décès imputables au cancer, chiffres très faibles si l'on songe qu'en Suisse la mortalité cancéreuse atteint 12,8 pour 10.000 habitants et qu'en Romagne, d'après Sambon, elle dépasserait 20.

*
* *

Les statistiques de l'Assistance indochinoise accusent un chiffre sensiblement égal de cancéreux des deux sexes ainsi qu'un pourcentage élevé de cancers infantiles (environ 10 p. 100).

En ce qui concerne le siège du cancer nous n'avons pu faire état du rapport d'ensemble de l'Assistance et nous avons consulté les registres de la salle d'opération de l'hôpital de Cholon : pendant la période de dix ans 1913-1923, les 260 tumeurs malignes ayant motivé une intervention chirurgicale peuvent être groupées, en tenant compte de leur localisation, dans l'ordre suivant :

	POURCENTAGE	AGE MOYEN
Cancers de la bouche.	20,4	56 ans.
— de la verge.	15	45 —
— de l'utérus.	15	39 —
— du cou.	12,7	46 —
— du sein.	7,3	47 —
— de la peau.	5,4	58 —
— de l'estomac.	5	42 —
— de l'ovaire.	4,6	34 —
— de l'intestin (rectum compris) . . .	2,7	49 —
— du testicule.	1,5	31 —
— du foie.	1,1	41 —
— de la prostate.	0,76	63 —
— du larynx.	0,76	55 —
— de l'œsophage.	0,38	48 —

*
* *

De l'ensemble de ces constatations, il résulte que le cancer sévit en Cochinchine à l'état endémique depuis plusieurs années. Les proportions relatives des diverses localisations semblent assez différentes de celles qu'on observe en Europe, l'âge moyen paraît abaissé. L'absence d'examen histologique n'autorise pas d'autres conclusions et interdit toute tentative de classification des variétés observées.

*
* *

Il était indispensable de contrôler et de compléter ces renseignements puisés dans les statistiques hospitalières des dernières années par une enquête récente et précise, à la fois clinique et histologique, offrant toutes garanties au point de vue du diagnostic et embrassant une grande variété de tumeurs provenant de divers points de Cochinchine. L'obligeance et l'autorité du directeur de l'hôpital indigène de Cholon, le D^r Lalung-Bonnaire, nous ont permis de réunir en un temps relativement court de nombreuses observations de malades hospitalisés et de recueillir dans les conditions les plus favorables, à la salle d'opération ou d'autopsie, un matériel important dont l'examen histo-pathologique a été poursuivi méthodiquement au laboratoire de l'Institut Pasteur de Saïgon, spécialement organisé à cet effet.

De juin 1924 à décembre 1925, sur un total de 650 malades examinés, 178 cas de cancer ont été identifiés et ont fait l'objet d'une étude spéciale. Ces 178 cas comprennent 143 épithéliomas et 35 sarcomes, soit une proportion de 1 cancer d'origine conjonctive pour 4 d'origine épithéliale, proportion notablement plus élevée que celle observée en Europe : 1 pour 17 en Suisse (Renaud) (1). Elle se rapproche des chiffres relevés par Snijders et Straub (2) à Sumatra (1 : 3), par Dekester (3) au Maroc (1 : 6).

(1) RENAUD, Documents et réflexions sur la démographie et la statistique du cancer. *Paris médical*, 21 février 1925.

(2) SNIJDERS et STRAUB, Contribution au problème du cancer sous les tropiques. *5th Congress of the F. E. A. T. M.*, 1923, p. 779.

(3) DEKESTER, Le cancer au Maroc. *Bull. Assoc. française cancer*, 1923, p. 31 et 671.

TABLEAU A. — 1^o Cancers de lignée épithéliale.

TYPE HISTOLOGIQUE	LOCALISATION	HOMMES	FEMMES	TOTAL	PROPORTION p. 100	AGE MOYEN
Epithéliomas épidermiques spino-cellulaires	Verge.	14				
	Bouche	11	4			
	Lèvre	3	10			
	Con.	14	2			
	Crâne, face	4	4	81	56,6	48 ans.
	Langue	4	2			
	Utérus		3			
	Vulve, anus.	1				
	Membres	3	2			
	Utérus		11			
Epithéliomas épidermiques baso-cellulaires	Crâne et face	4	2	17	12	43 ans.
Epithéliomas glandulaires acineux	Pur.	1				
	Thyroïde	1		17	12	46 ans.
	Atypique	1	14			
Epithéliomas glandulaires cylindriques.	Estomac.	2	1			
	Intestin	5	1			
	Utérus		3	17	12	43 ans.
	Estomac.	1				
	Foie.	4				
Epithéliomas glandulaires métaplasiques (tumeurs mixtes, malignes).	Glandes salivaires.		2	3	2	47 ans.
	Sein.		1			
Epithéliomas du type séminifère (spermatogonique).	Ovaire.		1	1	0,6	47 ans.
Dysembryomes malins (chorio-épithéliome, épithéliome wöllflien).	Utérus		3	6	4,2	46 ans.
	Ovaire.		3			
Névoépithéliome.	Fesse	1		1	0,6	30 ans.
Total des cancers épithéliaux		74	69	143		

Age moyen des épithéliomas : 46 ans.
Avec comme limites extrêmes : 15 et 86 ans.

TABLEAU A. — 2° Cancers d'origine et d'évolution mésoenchymateuses.

TYPE HISTOLOGIQUE	LOCALISATION	HOMMES	FEMMES	TOTAL	PROPORTION p. 100	AGE MOYEN
Sarcomes fibroblastiques	Membres	2	1	4	34,4	38 ans.
	Thorax, abdomen	2	3			
	Crâne et face	1	1			
	Cou	1	1			
Sarcomes myoblastiques	Intestin	1		1	2,8	32 ans.
Sarcomes lymphoblastiques	Estomac	1		3	44,2	40 ans.
	Cou	1				
	Tête	2	1			
Sarcomes de la trame ganglionnaire	Cou	4	4	8	22,9	32 ans.
Sarcomes squelettogènes	Membres, gencive	2	3	5	44,2	27 ans.
Sarcomes à cellules polymorphes	Généralisé, front	2	1	3	8,5	30 ans.
Myxo-sarcome	Crâne, ovaire	1	1	2	5,8	25 ans.
Chiffre total des sarcomes		19	16	35		

Age moyen des sarcomes : 34 ans.
Avec comme extrêmes : 5 et 78 ans.

Il est probable que la longévité moindre des habitants des régions tropicales empêche le développement d'un certain nombre de cancers épithéliaux au profit des sarcomes, plus précoces. Peut-être aussi faut-il faire intervenir la fréquence des traumatismes dont l'influence sur la genèse des sarcomes est incontestable.

La classification morphologique de P. Masson, basée sur la structure des tumeurs et les affinités familiales de leurs cellules assigne à ces 178 cancers la répartition suivante :

Le tableau A nous montre que les principales variétés histologiques du cancer sont représentées en Cochinchine ; quelques types rarement observés en Europe ou présentant des faits de structure intéressants ont été décrits dans des communications déjà publiées ou en cours de publication (1).

Le tableau B indique la fréquence relative des diverses localisations cancéreuses observées chez l'Annamite de Cochinchine. Il met en relief le pourcentage élevé des cancers de la bouche (plus de 20 p. 100), de la région cervicale (15 p. 100) et des organes génitaux externes (près de 10 p. 100). Par contre il n'accorde aux cancers digestifs, si fréquents en Europe, qu'un pourcentage très faible, paradoxal, semble-t-il, dans un pays où le parasitisme intestinal tient une si grande place en pathologie.

Les cancers du sein et de l'utérus semblent un peu moins fréquents que dans les pays tempérés ; les localisations cutanées sont encore plus rares, les cancers næviques exceptionnels.

Nous devons signaler, comme étant peut-être en relation avec la fréquence des tumeurs malignes de la bouche, l'usage à peu près général chez les Cochinchinois du masticatoire à base de chaux et de bétel et l'abus de la cigarette ; les lésions traumatiques de la muqueuse relevant de ces irritations continuelles sont entretenues et aggravées par le manque de soins hygiéniques, l'existence de caries et d'abcès dentaires évoluant à l'abri de tout traitement sur un terrain fréquemment syphilitique.

Le même tableau confirme l'égalité des sexes devant le cancer et montre que l'âge des malades oscille de trente à cinquante-

(1) Voir *Bulletin de la Société médico-chirurgicale de l'Indochine*, 1924 et 1925.

TABLEAU B. — Cancers observés à l'hôpital indigène de Cochinchine (1924-1925)
classés suivant l'âge, le sexe, la localisation.

LOCALISATION CANCÉREUSE	NOMBRE DE CAS			PROPORTION p. 100	AGE MOYEN		
	Hommes	Femmes	Enfants		Hommes	Femmes	Ensemble
Cancers de la bouche (lèvre, langue, gencives) . . .	17	20	1	38	52	55 1/2	54
Cancers de la région cervicale	20	7		27	43	45	43,5
Cancers du crâne et de la face	11	8	1	20	36	40	36
Cancers de l'utérus		19		19		42	42
Cancers des organes génitaux externes	16	1		17	36	36	37
Cancers du sein	1	15		16	41	48	47
Cancers des membres	8	3		11	45	34	42
Cancers des parois thoracique et abdominale . . .	2	4		6	43	42	42
Cancers de l'intestin	6	1		7	48	48	48
Cancers de l'ovaire		6		6		46	46
Cancers de l'estomac	4	1		5	49	43	47
Cancers du foie	4			4	44		44
Cancers généralisés	1	1		2	30	30	30
Total	90	86	2	178			

Âge moyen des cancers observés : 44 ans.

Age moyen des cancers observés : 44 ans.

TABLEAU II. — Proportion relative des diverses localisations cancéreuses suivant l'âge.

	BOUCHE	TISSU CONJONCTIF	COL	PEAU	UTÉRUS	VERGE	SEIN	INTESTIN	OVAIRE	ESTOMAC	FOIE	TOTAL
0 à 19 ans	1	2	0	3	0	1	0	0	0	0	0	7
20 à 29 ans	0	2	3	2	2	5	1	0	0	0	0	20
30 à 39 ans	3	4	5	3	5	6	1	4	0	1	3	37
40 à 49 ans	6	4	2	5	8	5	8	3	4	1	0	46
50 à 59 ans	41	3	10	4	4	0	4	2	2	3	0	43
60 à 69 ans	40	0	2	2	0	0	2	1	0	0	1	48
70 à 79 ans	5	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	7
	38	19	27	20	19	17	16	7	6	3	4	178

cinq ans suivant la localisation, chiffre notablement abaissé par rapport aux observations des pays tempérés.

* *

On peut se rendre compte en effet (tableau D) que les 4/5^e des cancers naissent entre vingt et soixante ans, et que chaque variété a son âge de prédilection : les cancers de la verge atteignent surtout des hommes jeunes aux environs de trente ans ; ceux de la bouche, des vieillards après cinquante ans ; les néoplasmes de l'intestin s'échelonnent entre trente et soixante-dix ans, tandis que les cancers de l'ovaire, de l'utérus et du sein se cantonnent aux approches de la cinquantaine.

* *

La recherche systématique des réactions sérologiques (1) de la syphilis

(1) Réaction de fixation du complément suivant la technique Calmette et Massol : Antigène foie hérédo pour la syphilis. Antigène méthylique de Nègre et Boquet pour la tuberculose.

et de la tuberculose chez les cancéreux révèle la coexistence fréquente de deux infections :

30 p. 100 des porteurs de tumeurs malignes examinés avaient un Bordet-Wassermann positif; 48 p. 100 réagissaient à l'antigène tuberculeux.

La coexistence du cancer et de la syphilis était surtout fréquente dans les cas de localisation buccale ou viscérale des néoplasmes; la tuberculose a pu être mise en évidence dans la plupart des cas de sarcomes ganglionnaires du cou.

L'infection triple a été constatée cinq fois.

CONCLUSIONS.

On ne saurait être trop prudent en interprétant les résultats de cette enquête qui fait état de documents anciens ou récents recueillis uniquement en milieu hospitalier.

Le résultat de nos recherches autorise cependant les conclusions suivantes :

1° On observe chez l'Annamite de Cochinchine les mêmes variétés histologiques de cancer que dans les pays tempérés.

Seules diffèrent les proportions relatives de certains types morphologiques. Notamment, la proportion des sarcomes par rapport aux tumeurs épithéliales paraît beaucoup plus élevée.

2° Certaines localisations (cavité buccale, cou, verge) offrent une fréquence anormale, coïncidant dans une large mesure avec des infections microbiennes chroniques et des traumatismes répétés. Les cancers viscéraux et en particulier ceux du tube digestif sont rarement observés.

3° L'âge des cancéreux se maintient à un niveau moins élevé qu'en Europe, ce qui peut tenir uniquement à la brièveté de la vie sous les tropiques.

4° On peut admettre provisoirement que la proportion de cancéreux dans les formations sanitaires de Cochinchine est voisine de 1 pour 100 malades. Ce chiffre est assez proche de ceux que donne Degorce (1) pour les Annamites du Tonkin

(1) DEGORCE, Contribution à l'étude des tumeurs chez les Annamites du Tonkin. 3rd Congress of the F. E. A. T. M., Saïgon, 1913, p. 432.

(1906-1913) : 0,62 p. 100 et Leroy des Barres (1) pour les hôpitaux de Hanoï en 1921 et 1922 : 1,49 et 1,62 p. 100.

5° Les chiffres de la morbidité cancéreuse globale : 5,8 pour 10.000 habitants et de la mortalité, 0,47 fournis par les statistiques des cinq dernières années sont certainement au-dessous de la réalité. Ils soulignent notre impuissance actuelle à dénombrer les cas de cancer dans la population annamite en dehors des formations sanitaires, en raison de la résistance que rencontre la pratique des autopsies et des difficultés que présente le contrôle du diagnostic des décès.

(1) LEROY DES BARRES, Le cancer au Tonkin. *Revue de médecine et d'hygiène tropicales*, 1924.

LES DÉRIVÉS DE L'ACIDE PHÉNYLARSINIQUE
(ARSENIC PENTAVALENT)
DANS LE TRAITEMENT DES TRYPANOSOMIASES

RELATION ENTRE L'ACTION THÉRAPEUTIQUE
DES ACIDES ARSINIQUES AROMATIQUES
ET LEUR CONSTITUTION

[DEUXIÈME MÉMOIRE] (1),

par M. E. FOURNEAU, M. et M^{me} TRÉFOUEL
et M^{me} DE LESTRANGE-TRÉVISE.

Au cours de ces dernières années, les dérivés contenant l'arsenic à l'état pentavalent, principalement la Tryparsamide et le Stovarsol, se sont imposés à l'attention, la Tryparsamide par son action remarquable sur les formes nerveuses de la maladie du sommeil, le second par son action non seulement sur la syphilis et le pian, mais surtout sur la plupart des maladies à protozoaires, telles qu'infections intestinales, amibiennes, une des formes de la malaria, et beaucoup d'autres infections où l'on soupçonne une association spirillaire (rougeole, oreillons).

En présence de ces résultats on peut observer deux attitudes.

Quand on constate que plusieurs médicaments arsenicaux ont trouvé des emplois qui n'étaient pas prévus, ne doit-on pas se demander si une étude plus complète de certains d'entre eux ne serait pas plus utile que la recherche de corps nouveaux? Pour ceux des dérivés arsenicaux que l'on n'est pas encore arrivé à préparer dans un état de pureté absolu, comme les arsénobenzènes, ne vaudrait-il pas mieux, et telle était l'opinion d'Ehrlich, pousser à fond l'étude physiologique et physico-chimique du 606 et de ses dérivés immédiats, pour tâcher

(1) Voir le premier mémoire dans *Ces Annales*, 37, 1923, p. 551.

de réduire au minimum leurs inconvénients, que de perdre du temps et de l'argent à la recherche d'autres arsénoïques ; alors surtout que, depuis plus de vingt ans, une telle quantité d'observations se sont accumulées, provoquées par l'enthousiasme des premiers succès, que pour aucun médicament de même nature les cliniciens n'auront sans doute le courage de recommencer.

Mais une autre attitude, et c'est la nôtre, se définit de la manière suivante : On ne peut fixer une limite au progrès. Si, après une première découverte on s'était dit : « Tenons-nous en là, jamais on ne fera mieux », il est probable que nous serions restés à l'âge de pierre. Sans la ténacité des chimistes de l'Institut Rockefeller, de Brown et de Miss Pearce, l'atoxyl serait encore seul employé dans la maladie du sommeil et on devrait abandonner à leur triste sort tous les sommeilleux à la deuxième période. Si nous n'avions pas cherché des remèdes pour le traitement de la syphilis, nous ne dirons pas plus efficaces que le « 606 », mais d'un emploi plus commode, nous n'aurions pas donné à Levaditi et à Navarro-Martin la chance de découvrir cette action remarquable du Stovarsol par la voie buccale, ni à Marchoux celle de son application au traitement de la dysenterie amibienne et d'autres infections intestinales. Ehrlich lui-même, qui cependant prévoyait que pendant longtemps encore on ne trouverait rien de mieux que le 606, a non seulement essayé de l'améliorer (et il y a réussi avec le 914), mais il a poursuivi jusqu'à sa mort les recherches en vue de découvrir des arsénicaux très différents.

En définitive, les deux attitudes sont parfaitement justifiées. Nous pouvons, dans tous les cas, légitimer la nôtre en nous appuyant sur des faits.

1^o La maladie du sommeil est en train de décimer l'Afrique centrale. On peut lutter contre elle en intensifiant l'emploi des moyens connus, c'est-à-dire à l'aide de l'Atoxyl, de la Tryparsamide, de l'émétique, tous utilisables seulement par voie d'injections répétées, coûteuses, difficiles à pratiquer à cause de l'immense éparpillement des foyers contaminés. Ne serait-il pas préférable de ne pas se borner à ces médicaments et d'en chercher de plus actifs, de moins coûteux, dont la facilité d'emploi serait telle que les indigènes auraient la possibilité de

se soigner chez eux sous une surveillance qui s'exercerait seulement à des intervalles espacés? Seuls les médicaments pouvant être employés en frictions, par voie buccale, sont susceptibles de remplir ces conditions:

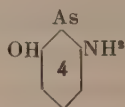
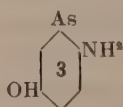
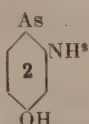
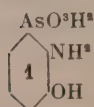
2° Etant donné l'activité du Stovarsol sur une des formes de la malaria, n'est-il pas permis d'espérer que des modifications d'ordre chimique apportées à la molécule de l'acide phénylar-sinique conduiront à des remèdes guérissant aussi les deux autres formes?

Si l'on pouvait limiter le champ des opérations d'ordre chimique en éliminant toutes celles qui portent sur des fonctions ou des positions n'ayant pas d'influence sur l'action thérapeutique ou en ayant une mauvaise, on avancerait rapidement vers la solution des problèmes que nous avons posés. Malheureusement, l'influence des fonctions et de leur position ne peut être déterminée à l'avance, car nous ne possédons pas encore assez de renseignements. Il faut tenir compte non seulement de la position d'une fonction par rapport à l'arsenic, mais aussi de l'influence d'une deuxième fonction sur la première.

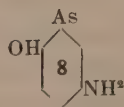
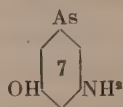
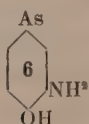
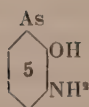
Par exemple, dans le « 606 » l'oxhydrile est fixé dans la position para relativement à l'arsenic, mais il y a aussi la fonction aminée qui est en ortho par rapport à l'oxhydrile phénolique et en méta quant à l'arsenic. Quel est le facteur dominant de l'action du 606? Pourquoi occupe-t-il une place privilégiée dans le domaine des arsénoïques aminophénoliques? Il est possible que les théories électroniques nous renseignent un jour sur les conditions physico-chimiques les plus favorables à l'action thérapeutique, mais elles doivent s'appuyer elles-mêmes sur des exemples nombreux. D'ailleurs, pour être bien certain que le 606 est le meilleur des arsénos aminophénoliques, il faudrait que tous les isomères fussent connus, ce qui est loin d'être le cas. Enfin, comme nous l'avons dit dans notre premier mémoire, l'étude des arsénos ne peut servir de base à l'établissement de relations chimico-thérapeutiques, car les arsénos renferment parfois 25 à 30 p. 100 d'impuretés. C'est pourquoi nous avons toujours affirmé que l'influence des positions ne saurait être établie que pour des corps stables et bien définis tels que les acides arséniques.

Après avoir examiné les acides simples (à une seule fonction) nous avons surtout porté notre effort sur les acides à deux fonctions, en particulier sur les acides aminophénols arsiniques. Ces acides sont au nombre de dix dont voici la formule que nous donnons une fois pour toutes :

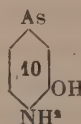
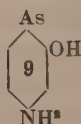
Acides arsenicaux.



Aminés en ortho.



Aminés en méta.



Aminés en para.

Quand nous avons publié notre premier mémoire, trois de ces acides n'étaient pas encore connus. Leur préparation était, en effet, très difficile et l'on pouvait craindre que, même fussent-ils actifs au point de vue thérapeutique, leur prix de revient élevé ne s'opposât à leur emploi. En tout état de cause, il était peut-être inutile de perdre son temps à les préparer. Mais le côté théorique de leur étude était si important qu'il nous a paru nécessaire de déblayer le terrain pour des recherches futures. Nous avons donc consacré le temps voulu à leur préparation et nous sommes maintenant en possession des dix acides aminophénolarsiniques, ce qui — entre parenthèses — nous permettra de préparer les arséniques correspondants. Nous avons amorcé également une étude sur l'influence exercée par des chaînes ou des éléments qui ne sont pas à proprement parler des fonctions (restes alcoylés, halogènes), influence que

les pharmacologues avaient plutôt tendance à méconnaître (1), mais que notre étude sur le 205 Bayer a mise pleinement en lumière. Comme on le verra par quelques exemples, l'introduction de ces restes soi-disant inertes joue un rôle parfois supérieur à celui des substitutions considérées comme les plus actives thérapeutiquement (NH_2 ; $-\text{OH}$; $-\text{CO}_2\text{H}$, etc.).

En résumé, poursuivant nos recherches dans la voie des acides arsiniques, nous présentons aujourd'hui les résultats d'un travail qui tend à combler quelques lacunes que des difficultés techniques particulières nous avaient forcés de laisser dans notre précédent mémoire. Nous y étudions en particulier l'influence des positions, celle des radicaux alcoylés, des halogènes (chlore); l'influence du blocage de la fonction aminée, qu'elle soit due soit à la nature du reste acidylé, soit à la position de la fonction aminée.

Enfin, nous complétons l'étude des acides oxyaminophénylarsiniques par celle des trois isomères nouveaux qui restaient encore à préparer.

*
* *

Nous avons divisé notre mémoire de telle sorte qu'on se rend compte rapidement de l'influence due à la nature des chaînes latérales et à leur position. Nous sommes obligés naturellement de revenir sur certains corps cités dans notre précédent mémoire et nous les distinguerons par des caractères plus fins. Si par exemple nous voulons montrer l'influence d'un reste méthyle sur l'indice chimiothérapeutique du 189 ou acide *m*-amino-*p*-oxyphénylarsinique, nous serons ainsi amenés à rappeler les doses toxiques et curatives de ce dernier médicament (2).

Nous présenterons les résultats sous la forme de tableaux qui permettent de voir d'un coup d'œil les différences dans les

(1) Comment expliquer autrement que l'on ait si peu cherché à remplacer l'aspirine; que, jusqu'à ces dernières années, le Véronal n'ait pas eu de concurrent sérieux, etc.

(2) Tous les acides ont été essayés sous la forme de leurs sels de soude. Ces derniers cristallisent généralement avec deux à trois molécules d'eau, parfois davantage. Les doses indiquées se réfèrent toutes à des sels non desséchés. C'est surtout l'indice chimiothérapeutique qui est intéressant et il nous a semblé inutile de reporter toutes les doses à la teneur en arsenic.

indices chimiothérapeutiques, les doses toxiques et les doses curatives. Chaque tableau sera suivi d'un petit commentaire, de renseignements bibliographiques et de notes sommaires sur la préparation des acides (1).

INFLUENCE DU RESTE MÉTHYLE. — Nous avons introduit le radical méthyle dans quatre types d'acides : un acide aminooxyphénylarsinique (189), deux acides acétylaminoxyphénylarsiniques (270 et 272), et un acide diaminophénylarsinique (209).

Le 299 est décrit dans un brevet D. R. P. 224.953 (M. L. B.) et dans un travail de Benda et Kahn (2). On l'obtient en chauffant l'ortho-crésol avec l'acide arsinique, en nitrant le produit obtenu, et enfin en réduisant la fonction nitrée.

300 : Pour préparer le 300, on réduit le dérivé nitré correspondant préparé par Karrer (3). On l'obtient également en chauffant avec la soude le dérivé nitré servant à préparer le 304 (Voir plus loin).

423 : On commence par préparer la p-nitro-o-toluidine en condensant la toluidine avec le chlorure de l'acide toluène sulfonique, en nitrant l'amide obtenue et en saponifiant l'amide nitrée pour détacher le reste toluène sulfonique. L'amide nitrée est acétylée, le dérivé acétylé est réduit et l'amine obtenue acétylée complètement. On obtient ainsi la méthyldiacétyl-p-phénylène diamine qu'on nitre (en para par rapport à CH^3) [4]. On désacétyle et on réacétyle de nouveau. L'acétylation se porte exclusivement sur la fonction aminée placée en ortho par rapport au CH^3 . On diazote, on fait agir l'acide arsénieux d'après la méthode de Bart. On réduit la fonction nitrée, ce qui donne l'acide 2-amino-4-acétylamino-5-méthyl-1-phénylarsinique (420). Par diazotation on remplace la fonction aminée par un OH. On obtient ainsi le 423.

304 : Cet acide n'avait pas encore été décrit. On part de la 4-nitro-2-toluidine (qui sert de matière première au corps précédent) et on remplace NH^2 par AsO^2H^2 . On réduit la fonction nitrée et on fait l'urée symétrique de l'acide toluidinearsinique

(1) Nous nous proposons de revenir plus en détail sur la partie chimique dans le *Bulletin de la Société chimique de France*.

(2) BENDA et KAHN. *Ber.*, **41**, 1908, p. 4678.

(3) KARRER. *Ber.*, **43**, 1913, p. 307.

(4) *Soc. Ch. de Londres*, **103**, p. 1398.

TABLEAU I. — Influence du méthyle.

ACIDES	N°	FORMULES	D. T.	D. M. T.	D. C.	$\frac{T}{C}$ (1)
3-amino-4-oxo-phénylarsinique	189	$C^6H^3(NH^2)_3(OH)_4(AsO^3H^2)_4$	0,040	0,035	0,007	5
3-amino-4-oxo-5-méthylphénylarsinique	299	$C^6H^3(NH^2)_3(OH)_4(CH^3)_3(AsO^3H^2)_4$	0,041	0,005	0,005	1
3-amino-4-oxo-6-méthylphénylarsinique (Méthyl 189)	300	$C^6H^3(NH^2)_3(OH)_4(CH^3)_6(AsO^3H^2)_4$	0,020	0,020	0,008	2,5
4-acétylamino-2-oxophénylarsinique	270	$C^6H^3(NHCOCH^3)_4(OH)_2(AsO^3H^2)_4$	0,033	0,020	0,001	20
4-acétylamino-2-oxo-5-méthylphénylarsinique	423	$C^6H^3(NHCOCH^3)_4(OH)_2(CH^3)_6(AsO^3H^2)_4$	0,030	0,020	0,007 0,625	3
2-amino-4-acétylamino-phénylarsinique	272	$C^6H^3(NH^2)_4(NHCOCH^3)_4(AsO^3H^2)_4$	0,050	0,040	0,009	4
2-amino-4-acétylamino-5-méthylphénylarsinique	420	$C^6H^3(NH^2)_4(NHCOCH^3)_4(CH^3)_8(AsO^3H^2)_4$	0,040 Rechute le dixième jour à 0,030.	0,025	0,009	3
3-4-diamino-phénylarsinique	209	$C^6H^3(NH^2)_3(NH^2)_4(AsO^3H^2)_4$	0,100	0,060	Irégulière.	
3-4-diamino-6-méthylphénylarsinique	304	$C^6H^3(NH^2)_3(NH^2)_4(CH^3)_6(AsO^3H^2)_4$	0,060	0,060	0,030	2

(1) Nous devons revenir sur ces signes D. T., D. M. T., D. C. et $\frac{T}{C}$ et bien préciser leur signification.

Cela nous paraît d'autant plus nécessaire que deux erreurs se sont glissées dans notre premier Mémoire des *Annales de l'Institut Pasteur* (juin 1923). La première se trouve à la page 555, ligne 19 : au lieu de C. T., on doit lire D. C.; page 611, troisième ligne en partant du bas, on doit lire : « les doses efficaces (D. C.) », au lieu de D. T.

Nous représentons par :

D. T., la dose sub-mortelle supportée par la plupart des animaux.

D. M. T., la dose maxima tolérée par tous les animaux sans qu'aucun d'eux ne présente de phénomènes toxiques apparents. Très souvent on n'en tient pas compte et le rapport s'établit exclusivement entre la dose curative et la dose sub-mortelle. Il nous a semblé que nous nous rapprochions beaucoup mieux des conditions exigées pour le traitement des animaux et de l'homme en choisissant une dose qui n'amène pas chez l'animal de troubles trop graves.

D. C., la dose toujours curative.

$\frac{T}{C}$, indice chimiothérapeutique : rapporte entre la dose tolérée et la dose curative.

obtenu. On nitre, on coupe la fonction urée et on réduit. Comme on l'a vu, cet acide peut servir à préparer le 423.

On peut constater que la méthylation a eu presque toujours une influence nettement défavorable. Ehrlich avait fait la même constatation dans tous les cas où il avait introduit un méthyle dans la molécule de l'acide arsinique. Seulement dans le cas du 304 observe-t-on une différence en faveur de l'acide méthylé. Cela tient sans doute à ce que tous les acides diaminés, bien que très actifs, s'éliminent avec une grande facilité; et ils n'ont pour ainsi dire pas le temps d'exercer leur action et la méthylation en rend sans doute l'élimination moins facile. Il serait, dans tous les cas, intéressant d'étudier d'autres groupes d'acides méthyldiaminés.

On remarquera aussi que lorsque le reste méthyle est placé en 5, c'est-à-dire quand les deux positions voisines de l'oxydryle sont occupées, l'action thérapeutique est plus diminuée que lorsque le méthyle est en 6. Des recherches déjà commencées ont pour but de préciser l'influence de la position pour les acides à trois substitutions.

INFLUENCE DU CHLORE. — Le 431 se prépare en faisant agir l'acide arsénieux sur l'ortho-nitraniline (1), puis en réduisant le dérivé nitré obtenu (Tableau II).

Le 450 a été préparé par Bertheim (2) en chlorant l'arsacétine, et le 464 en désacétylant le 450.

Le 422 s'obtient en traitant par l'acide chlorhydrique et la poudre de cuivre le diazoïque du 272 ou acide p-acétylamino-o-aminophénylarsinique.

Le 429 : On traite le 431 par la chloracétamide.

Le 443 : On traite le 464 par l'iodoacétamide (ce produit ainsi que le précédent sont des dérivés chlorés de la tryparsamide).

Le 425 : Réduction de l'acide 3-nitro-6-chlorophénylarsinique (3).

441 : Nitration de l'acide p-chlorophénylarsinique, puis réduction du dérivé nitré (4). On peut encore le préparer en

(1) CASELLA et Co. D. R. P. 409.189.

(2) BERTHEIM. *Ber.*, 43, 529, 1910.

(3) BOEHRINGER. D. R. P. 286.547.

(4) M. L. B. D. R. P. 245.536. *Centralblatt*, 1, 1522, 1912; MOUNEYRAT. E. P. 142.947, 1919; BERTHEIM. *Ber.*, 41, 1856; SPEYER HAUS. D. R. P. 205.449.

TABLEAU II. — Influence du chlore.

ACIDES	N ^o	FORMULES	D. T.	D. M. T.	D. C.	T C
4-amino-phénylarsinique	434	$C^6H^4(NH^2)_4(AsO^3H^2)_4$	0,003	0,0033	0,0033	1
4-amino-2-chlorophénylarsinique	464	$C^6H^3(NH^2)_4(Cl)_3(AsO^3H^2)_4$	0,0045	0,003 0,001	Légère action. Légère action.	0 0
4-amino-3-chlorophénylarsinique		$C^6H^3(NH^2)_4(Cl)_3(AsO^3H^2)_4$				
4-acétylamino-phénylarsinique (arsacétine)	422	$C^6H^4(NHCOCH^3)_4(AsO^3H^2)_4$	0,047	0,025 0,033 0,047	0,025 0,033 0,043	1 1 1
4-acétylamino-2-chlorophénylarsinique	450	$C^6H^3(NHCOCH^3)_3(Cl)_3(AsO^3H^2)_4$	0,003	0,002	Légère action.	0
4-acétylamino-3-chlorophénylarsinique		$C^6H^3(NHCOCH^3)_3(Cl)_3(AsO^3H^2)_4$				
4-phénylglycine amide arsinique (tryparsamide)	429	$C^6H^4(NNCH^2CONH^2)_4(AsO^3H^2)_4$	0,040	0,050	0,013	3
4-glycine amide-2-chlorophénylarsinique	443	$C^6H^3(NHCH^2CONH^2)_4(Cl)_3(AsO^3H^2)_4$	0,070	0,040	0,040	5
4-glycine amide-3-chlorophénylarsinique		$C^6H^3(NHCH^2CONH^2)_4(Cl)_3(AsO^3H^2)_4$	0,020	0,042	0,008	1,5
3-amino-phénylarsinique	240	$C^6H^4(NH^2)_3(AsO^3H^2)_4$	0,006	0,0045	Légère action.	0
3-amino-6-chlorophénylarsinique	425	$C^6H^3(NH^2)_3(Cl)_3(AsO^3H^2)_4$	0,0005	0,006	0,006	1
3-amino-4-chlorophénylarsinique	441	$C^6H^3(NH^2)_3(Cl)_4(AsO^3H^2)_4$		0,0005	Légère action.	0
3-acétylamino-phénylarsinique	241	$C^6H^4(NHCOCH^3)_3(AsO^3H^2)_4$	0,045	0,010	0,005	2
3-acétylamino-6-chlorophénylarsinique	426	$C^6H^3(NHCOCH^3)_3(Cl)_3(AsO^3H^2)_4$	0,042	0,040	Légère action.	0
3-acétylamino-4-chlorophénylarsinique	445	$C^6H^3(NHCOCH^3)_3(Cl)_4(AsO^3H^2)_4$	0,005	0,003	Très Légère action.	0
3-amino-4-oxypénylarsinique	489	$C^6H^2(NH^2)_3(OH)_4(AsO^3H^2)_4$	0,040	0,035	0,007	5
3-amino-4-oxo-5-bromophénylarsinique	469	$C^6H^3(NH^2)_3(OH)_4(Br)_2(AsO^3H^2)_4$	0,020	0,010	0,010	1
3-acétylamino-4-oxo-5-bromophénylarsinique (bromostovarsol)	470	$C^6H^3(NHCOCH^3)_3(OH)_4(Br)_2(AsO^3H^2)_4$	0,005	0,004	Pas d'action.	0
3-amino-4-oxo-5-chlorophénylarsinique	467	$C^6H^3(NH^2)_3(OH)_4(Cl)_2(AsO^3H^2)_4$	0,045	0,008	Action irrég.	0
3-acétylamino-4-oxo-5-chlorophénylarsinique	468	$C^6H^3(NHCOCH^3)_3(OH)_4(Cl)_2(AsO^3H^2)_4$	0,025	0,020	Action irrég.	0

TABLEAU III. — Influence de la neutralisation de la fonction aminée.

ACIDES	N°	FORMULES	D. T.	D. M. T.	D. C.	$\frac{\gamma}{C}$
3-amino-4-oxy-phénylarsinique . . .	189	$C^6H^3(NH^3)_3(OH)_{1/4}(AsO^3H^3)_1$.	0,040	0,035	0,007	5
3-acétylamino-4-oxyphénylarsinique.	190	$C^6H^3(NHCOCH^3)_3(OH)_{1/4}(AsO^3H^3)_1$.			Légère action.	0
3 méthylcarbamino-4-oxyphénylarsinique.	349	$C^6H^3(NHCO^2CH^3)_3(OH)_{1/4}(AsO^3H^3)_1$.	0,045	0,008	Légère action.	0
3-éthylcarbamino-4-oxyphénylarsinique (1)	284	$C^6H^3(NHCO^2C^2H^5)_3(OH)_{1/4}(AsO^3H^3)_1$.	0,005		0	0
3-diméthylglycylamino-4-oxyphénylarsinique	445	$C^6H^3(NHCOCH^3N(CH^3)_3)(OH)_{1/4}(AsO^3H^3)_1$.	0,060	0,050	0,035	2
3-acétyl-lactylamino-4-oxyphénylarsinique	492	$C^6H^3(NH.CO.CH.CH^3)(OH)_{1/4}(AsO^3H^3)_{1/4}$ } S. cut. O.CO.CH ³ } P. os.	0,040 0,200	0,030 0,160	0,010 0,020	3 8
3-éthoxyacétylamino-4-oxyphénylarsinique	424	$C^6H^3(NHCOCH^3OC^2H^5)_3(OH)_{1/4}(AsO^3H^3)_1$.	0,043	0,042	Légère action.	0
3-glycineamine-(fermé) 4-oxyphénylarsinique	350	$C^6H^3(NHCH^2CO.O)_{3/4}(AsO^3H^3)_1$.	0,040	0,040	Légère action.	0

Les phénoxyacétylé et crésoxyacétylé n'ont pas été expérimentés car ils ne se dissolvent qu'en solution fortement alcaline (déjà noté par Bougault : benzyl 189).

3-4-diaminophénylarsinique.	209	$C^6H^3(NH^2)_{3/4}(AsO^3H^2)_1$.	0,100	0,060	Ir régulière.	
3-4-be-zimideazol-phénylarsinique (formylé fermé).	318 (2)	$C^6H^3(N=CH.NH)_{3/4}(AsO^3H^2)_1$.	0,020	0,045	0,045	1
3-4-méth-benzimideazol-phénylarsinique (acétylé fermé).	317 (2)	$C^6H^3(N=C(CH^3).NH)_{3/4}(AsO^3H^2)_1$.	0,025	0,020	0,045	1
3-4-éthylcarbamino-4-oxyphénylarsinique	289	$C^6H^3(NH^2)(OH)(AsO^3H^2)_1$.	0,020	0,045	0,002	8

436	4-oxylactylamino-2-oxypénylarsinique	$C^6H^3(NHCOCH^2CH^3)_4(OH)_{2-4}(AsO^3H^2)_1$	0,030	0,015	0,001	15
437	4-phénylglycine amide-2-oxypénylarsinique (trypanamide du 270)	$C^6H^3(NHCO.CH.CH^3)_4(OH)_{2-4}(AsO^3H^2)_4$ OOCCH ³	0,025	0,025	0,003	8
439	2-4-diaminophénylarsinique	$C^6H^3(NHCH^2CONH^2)_4(OH)_{2-4}(AsO^3H^2)_1$	0,030	0,020	0,040	2
273	2-amino-4-acétylaminophénylarsinique	$C^6H^3(NH^2)_{2-4}(AsO^3H^2)_1$	0,025	0,022	0,009	2,5
272	2-4-diacétylaminophénylarsinique	$C^6H^3(NH^2)_2(NHCOCH^3)_4(AsO^3H^2)_4$	0,040		0,009	4
396	2-4-dioxypénylarsinique (3)	$C^6H^3(NHCOCH^3)_{2-4}(AsO^3H^2)_4$	0,030	0,030	0,048	1,5
259	5-amino-2-4-dioxypénylarsinique	$C^6H^3(OH)_{2-4}(AsO^3H^2)_4$	0,022	0,009	Très légère action.	2,5
458	5-acétylamino-2-4-dioxypénylarsinique	$C^6H^2(NH^2)_5(OH)_{2-4}(AsO^3H^2)_1$	0,003	0,003	Très légère action.	0
456	5-formylamino-2-4-dioxypénylarsinique	$C^6H^2(NHCOCH^3)_5(OH)_{2-4}(AsO^3H^2)_1$ { S. cut. P. os.	0,048	0,048	Faible action.	0
461	5-propionylamino-2-4-dioxypénylarsinique	$C^6H^2(NHCOH)_5(OH)_{2-4}(AsO^3H^2)_1$	0,050	0,050	Très faible action.	0
462	3-5-diaminophénylarsinique	$C^6H^2(NHCOCH^2CH^3)_{2-5}(OH)_{2-4}(AsO^3H^2)_4$	0,035	0,035	0	0
447	3-5-diaminophénylarsinique	$C^6H^2(NH^2)_{3-5}(AsO^3H^2)_4$	0,018	0,018	0,040	1,8
444	3-5-diacétyldiaminophénylarsinique	$C^6H^2(NHCOCH^3)_{3-5}(AsO^3H^2)_4$	0,050	0,050	0,030	1,6

(1) M. L. B., U. S. P., 1077462. — BART, D. R. P., 268.172. — MOUNEYRAT, E. P., 142.947, 1919.

 (2) BAXTER et FARGHER, *J. Ch. Soc.*, 415, 1371, 1919.

 (3) BAUER, *Ber.*, 48, 1582, 1915; *Ber.*, 48, 515, 1915; M. L. B., D. R. P., 272.690 (et aussi dérivés aminés et acétylaminés 458 et 456).

traitant par l'acide chlorhydrique et la poudre de cuivre le diazoïque de l'acide p-amino-3-nitrophénylarsinique).

426 : Provient de l'acétylation du 423.

445 : Provient de l'acétylation du 441.

Le 467 s'obtient en nitrant puis désacétylant le 490. Acide 3-acétylamino 4-oxyphénylarsinique. L'acide nitré obtenu est diazoté et le diazo décomposé par l'acide chlorhydrique et la poudre de cuivre. La fonction nitrée est ensuite réduite.

Le 469 se prépare d'une manière identique mais en décomposant le diazo par du bromure cuivreux.

Le 468 provient de l'acétylation du 467. Le 470 provient de l'acétylation du 469.

L'introduction du chlore dans la molécule des acides arséniques a généralement pour effet une augmentation très sensible de la toxicité; la dose curative est, par contre, un peu plus faible, mais l'indice chimiothérapeutique reste néanmoins le plus souvent au-dessous de celui des acides non chlorés. Ce n'est que dans le cas de l'acide 3-amino-6-chlorophénylarsinique (423) et dans celui du 429 que la chloruration a diminué l'action toxique et que l'indice qui était de 0 et de 3 pour les acides non chlorés passe à 1 et à 5 pour les acides chlorés.

INFLUENCE DE LA NEUTRALISATION DE LA FONCTION AMINÉE. — Nous avons fait un très grand nombre d'essais pour voir l'influence que l'acétylation ou tout autre genre d'acidylation apportait à l'indice chimiothérapeutique des acides arsenicaux. Nous avons pris comme point de départ l'acide 3-amino-4-oxyphénylarsinique (189), l'acide 4-amino-2-oxyphénylarsinique (269), le 3-4-diaminophénylarsinique (209), le 2-4-diaminophénylarsinique (273), le 3-5-diaminophénylarsinique (447), le 2-4-dioxyphénylarsinique (239).

Quelques essais ont été faits par la voie buccale (Tableau III).

Le 349 et le 284 se préparent en traitant le 189 par les chlorocarbonates de méthyle et d'éthyle.

Le 415, en chauffant le dérivé chloroacétylé du 189 avec la diméthylamine;

Le 192, en traitant le 189 par le chlorure de l'acide acétylactique;

Le 421, par action du chlorure d'éthoxyacétyl sur le 189.

Le 350, par action de l'iodoacétanilide sur le 189.

Les amides phénoxyacétylée et crésoxyacétylée n'ont pas été expérimentées car elles ne sont solubles qu'en solution fortement alcaline. Ce fait avait déjà été noté par Bougault pour le benzoyl 189.

Pour les autres dérivés du tableau, la préparation des amides n'a pas besoin de description. Au simple examen des formules on voit comment les corps se préparent.

Presque toutes les substances décrites dans ce tableau sont nouvelles. Elles donnent lieu aux constatations suivantes :

Tout d'abord nous remarquons cette chose singulière que presque toujours les dérivés acidylés sont plus actifs par la voie buccale que par la voie sous-cutanée, du moins chez les souris atteintes de nagana. Le fait est tout à fait frappant pour le dérivé formylé de l'acide 4-amino-2-oxyphénylarsinique (269).

Dans la série du 189 on observe de plus un phénomène assez déroutant. Tandis que l'acétylation ou la création d'une fonction uréthane (ou de n'importe quelle fonction amide) s'accompagne d'une disparition presque complète de l'action trypanocide comparativement à l'acide à fonction aminée libre, on observe avec le dérivé diméthylglycinaminé 413, et tout particulièrement avec le dérivé acétyllactique, un indice chimiothérapeutique franchement positif. Dans les deux cas où apparaît ce phénomène, il doit s'agir probablement d'une diffusibilité beaucoup plus grande du médicament.

Pour le 415, la création d'une fonction aminée forte doit modifier sensiblement la localisation de l'acide arsenical.

Dans le cas du 192, il est probable que l'une des fonctions éther-sel se coupe, donnant ainsi naissance à l'amide lactique qui est certainement plus soluble que l'amide acétique.

Le tableau III confirme enfin la constatation que nous avons déjà faite, c'est que le blocage de la fonction aminée augmente en général l'indice chimiothérapeutique quand cette fonction est en para. Il met également en lumière la supériorité des dérivés de l'acide 4-amino-2-oxyphénylarsinique sur tous les autres acides arsenicaux de la même série.

Un fait assez curieux, c'est la disparition de toute action curative de l'acide résorcine arsinique quand on y introduit une

fonction aminée. Encore une preuve du peu de spécificité de cette fonction aminée prise en soi.

INFLUENCE DE LA POSITION DES FONCTIONS. — Nous avons pris comme type la tryparsamide et nous avons transporté la fonction phénylglycineamide en 2 et en 3.

Le tableau suivant donne les résultats de ces modifications :

On constate approximativement la même règle qu'avec les acides aminés simples. C'est ici le dérivé en para qui a l'action la plus forte.

Un cas particulier fort intéressant de l'influence des positions est fourni par l'ensemble des acides oxyaminophénylarsiniques.

NOUVEAUX ISOMÈRES DU 489. — Dans notre dernier mémoire nous avons décrit 7 isomères sur 10 ; nous avons été arrêtés par les difficultés de préparation des isomères restants, mais toutefois nous avons laissé entendre qu'il y aurait un très grand intérêt à les préparer et que la connaissance des 10 isomères serait d'une très grande utilité pour l'établissement des rapports entre la constitution chimique et l'action thérapeutique des acides arsenicaux. Depuis ce dernier mémoire nous avons préparé les 3 isomères restants et nous donnons les formules et les indices chimiothérapeutiques dans le tableau suivant.

416 : Le 2-amino-6-nitrophénol, que nous devons à la grande obligeance de M. le professeur Duisberg, des Farbenfabriken Bayer, est diazoté et le diazo est traité par la méthode de Bart, ce qui donne avec d'assez bons rendements l'acide nitré qu'on réduit par l'hydrosulfite de soude à froid. L'acétylation de cet acide donne le 419.

455 : On prépare d'abord le dinitroanisole en traitant le trinitrobenzène-1-3-5- par le méthylate de sodium. On déméthyle le dinitroanisole et on obtient le dinitrophénol dont on réduit une seule fonction nitrée par le chlorure stanneux. On isole le dérivé comme sous forme de nitro acétylamino phénol. On désacétyle et on remplace la fonction aminée par AsO^3H^2 . Enfin on réduit la fonction nitrée restante.

459 : On part de la benzoxazolone qu'on nitre, ce qui place la fonction nitrée en para par rapport à NH^2 . On réduit la fonction

TABLEAU IV. — Influence de la position des fonctions.

ACIDES	N ^o	FORMULES	D. T.	D. M. T.	D. C.	$\frac{C}{T}$
4-phénylglycineamidearsinique [tryparsamide] (1).		$C^6H^4(NHCH^2CO.NH^3)_4(AsO^3H^3)_4$.	0,040		0,013	3
3-phénylglycineamidearsinique (2)	430	$C^6H^4(NHCH^2CO.NH^3)_3(AsO^3H^3)_4$.	0,020	0,020	Légère action.	0
2-phénylglycineamidearsinique (3)	432	$C^6H^4(NHCH^2CO.NH^3)_3(AsO^3H^3)_4$.	0,030	0,025	0,020	1

Tryparsamide. Voir premier mémoire.
 { (1) 430 : Chloroacétamide sur métaminophénylarsinique.
 corps nouveaux. (2) 432 : Chloroacétamide sur ortho-aminophénylarsinique.

TABLEAU V. — Nouveaux isomères du 189 et du 190 (Stovarsol).

ACIDES	N ^o	FORMULES	D. T.	D. M. T.	D. C.	$\frac{T}{C}$
∞ { 2-oxy-3-aminophénylarsinique.	446	$C^6H^3(OH)_3(NH^3)_3(AsO^3H^3)_4$.	0,008	0,004	0,004	1
2-oxy-3-acétylaminophénylarsinique.	449	$C^6H^3(OH)_3(NHCOCH^3)_3(AsO^3H^3)_4$ { S. cut. P. os.	0,010	0,005 0,040	0,005 0,020	1 2
9 3-oxy-5-aminophénylarsinique.	455	$C^6H^3(OH)_3(NH^3)_5(AsO^3H^3)_4$.		0,055	0,020	< 3
10 { 2-oxy-6-aminophénylarsinique.	459	$C^6H^3(OH)_3(NH^3)_6(AsO^3H^3)_4$.	0,020	0,048	0,048	1
2-oxy-6-acétylaminophénylarsinique.	460	$C^6H^3(OH)_3(NHCOCH^3)_6(AsO^3H^3)_4$.	0,060	0,050	Pas d'action.	0

nitrée. On remplace la fonction aminée par AsO^3H^2 (1) puis on nitre l'acide benzoxazolonearsinique. Jusque-là toutes les réactions étaient connues.

En chauffant l'acide nitrobenzoxazolonearsinique avec l'acide sulfurique 20 N, on fait sauter la fonction As et on ouvre la fonction oxazolone. On obtient ainsi le nitroaminophénol-1-2-3 qui n'était pas encore décrit; on y remplace la fonction aminée par AsO^3H^2 ; on réduit la fonction nitrée et on obtient le 459.

L'acétylation fournit le 460.

L'étude de tous les acides oxyaminophénylarsiniques nous montre que seuls les acides 3-amino-4-oxyphénylarsinique (189) et 4-acétylamino-2-oxyphénylarsinique (270) sont intéressants du moins dans les conditions où nous nous sommes placés. Le premier est surtout actif contre les spirochètes et le deuxième contre les trypanosomes. L'étude très approfondie du 270, qui a été faite d'une part chez M. Levaditi sur le lapin puis chez le Dr Fournier sur l'homme, montre que ce produit est très inférieur au Stovarsol dans le traitement d'assaut de la syphilis.

Nous avons enfin étudié l'influence de quelques fonctions et en particulier de la fonction acétophénone qui est à la base d'un nouveau médicament dont il a été question à plusieurs reprises dans ces derniers temps : l'Albert 102, dont la formule n'a pas été donnée, mais dont on sait que c'est un dérivé de l'acétophénone.

Voici la liste de quelques substances préparées par nous. Nous la ferons suivre d'un petit commentaire :

319 : Oxydation par le persulfate de soude de l'acide phénolarsinique (2).

359 : Méthode de Bart sur aminoacétophénone para (3).

446 : Méthode de Bart sur aminoacétophénone meta.

363 : Réduction de nitrosamine de l'atoxyl (4).

457 : Chlorure d'arsenic sur diméthylaniline et oxydation (5).

(1) BENDA et SIEVERS. *U. S. P.*, **1**, n° 539, p. 798, 26 mai 1925.

(2) M. L. B. *D. R. P.*, n° 271, p. 892.

(3) OTTO MARGULIES. *B. F.*, n° 553.301.

(4) ROBERT MEYER.

(5) MICHAELIS. *D. R. P.*, n° 200.63. *Ber.*, **41**, 1514 (1908).

Comme on le voit, la fonction acétophénone est très active, ce qui confirme absolument ce qui a été dit par les inventeurs de l'Albert 102. Cependant depuis que cette substance a été mise en expérience dans les hôpitaux, la bonne opinion qu'en avaient les inventeurs, et qui était basée sur les essais de laboratoire, n'a pas été confirmée par les cliniciens. C'est là un cas bien fréquent. Cela n'empêche pas la voie nouvelle ouverte par l'Albert 102 d'être intéressante.

L'acide 4-acétophénonearsinique ne contient ni fonction aminée, ni fonction phénolique et cependant il est plus actif chez les animaux que l'atoxyl et que l'acide oxyphénylarsinique.

Un autre cas assez intéressant est celui de l'acide dioxyphénylarsinique (319) (pyrocatechine arsinique) qui est presque aussi actif et aussi peu toxique que l'acide dioxy-2-4 (résorcine arsinique) bien que la pyrocatechine soit assez toxique par elle-même.

Le tableau VI montre

TABLEAU VI. — Fonctions diverses.

ACIDES	N°	FORMULES	D.T.	D.M.T.	D.C.	T.C.
4-acétophénonearsinique	359	$C^6H^4(COCH^3)_4(AsO^3H^2)_4$.	0,040	0,005	0,002	2
4-phénylhydrazoneacétophénonearsinique	360	$C^6H^4C \equiv N - NHC^2H^5)_4(AsO^3H^2)_4$. CH ³	0,001		Légère action.	0
3-acétophénonearsinique	446	$C^6H^4(COCH^3)_3(AsO^3H^2)_4$.	0,004		Légère action.	0
4-phénylhydrazinearsinique (Meyer)	363	$C^6H^4(NH - NH^2)_4(AsO^3H^2)_4$.	0,040		Légère action.	0
3-4-dioxyphénylarsinique	319	$C^6H^3(OH)_2(AsO^3H^2)_4$.	0,040		0,005	2
N-diméthylatoxyl	457	$C^6H^4N(CH^3)_4(AsO^3H^2)_4$.	0,0004		0	0
Benzoxazolonearsinique	454	$C^6H^3(OCONEH)_{3-4}(AsO^3H^2)_4$.	0,040	0,007	0,005	4

encore la grande nocivité du dérivé qui porte deux substitutions sur la fonction aminée. Le remplacement dans l'atoxyl des deux H libres de l'amidogène augmente la toxicité d'une façon tout à fait démesurée (de trente fois environ).

*
* *

En résumé, le nombre des acides arsiniques agissant sur le Tr. Brucei chez la souris est assez limité. Il ne semble pas qu'une fonction soit beaucoup plus active qu'une autre. C'est ainsi que nous trouvons (ne tenant compte que des corps ne portant qu'une substitution) que les fonctions aminées, phénoliques et acétoniques introduites dans le noyau de l'acide phénylarsinique donnent des substances d'une activité à peu près égale.

Parmi tous ceux que nous avons essayés, les plus actifs contiennent deux fonctions : une fonction aminée toujours en para, et une autre fonction en ortho.

En un mot, les corps les plus actifs dans la série arsenicale semblent appartenir à la série des acides disubstitués portant la substitution en ortho et en para, la substitution en para étant toujours une fonction aminée.

Quand une modification exalte l'activité thérapeutique d'une substance déterminée, il ne faut pas croire qu'elle agira dans le même sens quand on la transportera sur une autre substance même plus active que la première. Si nous prenons la tryparsamide, par exemple, et l'acide o-oxy-p-aminophénylarsinique (269) (ce dernier étant de beaucoup le plus actif parmi les acides oxyaminophénylarsiniques), l'addition d'une fonction phénolique dans la position ortho de la tryparsamide (439) donne une substance qui est moins active que la tryparsamide d'une part et que l'acide oxyaminophénylarsinique, d'autre part.

Si maintenant, nous jetons un coup d'œil d'ensemble sur tous les dérivés arsenicaux que nous avons préparés et essayés, contenant la fonction arsenicale à l'état d'arsenic pentavalent, nous constatons que nous avons réussi à faire passer l'indice chimio-thérapeutique de 3, qui était le chiffre le plus élevé connu au début de nos recherches pour les dérivés de cet ordre (tryparsamide), à 20. Il n'est pas douteux qu'en poursuivant

les recherches dans la voie où nous nous sommes engagés on n'arrive à exalter encore d'une façon considérable l'activité thérapeutique.

Une question très importante que dès le début de nos recherches nous nous sommes proposés d'élucider est celle des relations entre les troubles nerveux et la nature des dérivés arsenicaux.

Il s'en faut de beaucoup que les acides arsiniques déterminent tous des troubles nerveux chez les souris. Ceux qui d'après nous ont le plus d'influence sur les centres nerveux sont ceux qui amènent des troubles aux doses les plus éloignées de la dose mortelle. Il est bien évident que lorsque les phénomènes nerveux apparaissent quelques instants avant la mort ils ne signifient pas grand chose.

Au point de vue clinique, ce qui importe surtout c'est que les acides injectés ne donnent lieu à aucun phénomène du côté de la vision aux doses curatives. Nous reviendrons sur ce point dans un prochain mémoire, mais nous pouvons dire dès maintenant qu'en général la plupart des acides étudiés par nous et possédant deux fonctions, une en ortho et l'autre en para, sont très peu toxiques pour le système nerveux des souris.

Le dérivé qui rend les souris danseuses aux doses les plus éloignées de la dose mortelle est l'acide benzoxazolonearsinique (454) ; les accidents apparaissent à la dose de 0,007 alors que la dose de 0,040 ne tue pas encore l'animal.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ÉTIOLOGIE DU GOITRE ENDÉMIQUE

ÉTUDE COMPARATIVE DU CORPS THYROÏDE ET DU THYMUS
DES RATS BLANCS DE PARIS, STRASBOURG, LAUSANNE ET ZURICH

par

FR. M. MESSERLI

et

E. COULAUD

Privat docent de l'Université
de Lausanne.

Médecin assistant du Dispensaire
Léon Bourgeois.

En pratiquant des autopsies de rats blancs à l'Institut Pasteur nous avons été frappés du volume réduit de leur glande thyroïde et nous avons pensé qu'une étude comparative du corps thyroïde et du thymus des rats de diverses régions de France et de Suisse pouvait présenter quelque intérêt (1).

D'assez nombreux auteurs ont étudié chez le rat blanc les hypertrophies thyroïdiennes.

E. Bircher, C. Répin et Wilms ont été les premiers à essayer de réaliser le goitre chez le rat blanc par ingestion d'eaux goitrigènes.

E. Bircher (2) obtint de cette façon des résultats positifs et démontra que la filtration de l'eau goitrigène ne la rendait pas inoffensive, tandis que l'ébullition suffisait à s'opposer à la production du goitre.

C. Répin (3) obtint des résultats identiques à ceux de E. Bircher, tandis que Wilms (4), expérimentant aussi sur des rats blancs, démontra que l'eau goitrigène perdait son pouvoir après chauffage à 90°.

Quelque temps plus tard, Mac Carrisson (5) provoqua expé-

(1) Ce travail n'a été rendu possible que grâce à l'obligeance de MM. les Professeurs Silberschmidt de Zurich, Galli Valerio et Popoff de Lausanne, et Borrel de Strasbourg, qui ont bien voulu nous envoyer les rats qui ont été utilisés pour ce travail. Nous leur adressons nos plus vifs remerciements.

(2) *Zeitsch. f. experim. Pathol. u. Ther.*, 9, 1011, S. 1.

(3) *C. R. Soc. Biol.*, 1911, p. 225.

(4) *Centralb. für Chirurgie*, 1910, n° 24, Beitrage.

(5) « The etiology of goitre » London, 1912. *Indian Journ. Med. Res.*, vol. 1, 1923, n° 3 et vol. 2, 1914, n° 1.

érimentalement de nombreux goitres chez des rats en leur faisant ingérer de l'eau bouillie. Il démontra que l'ébullition fait perdre à l'eau son pouvoir goitrigène et constata que 63 p. 100 des jeunes rats nés de parents goitreux étaient atteints de goitre.

Lors d'expériences faites de 1912 à 1914 sous la direction du Professeur B. Galli Valerio, à l'Institut d'Hygiène expérimentale et de Parasitologie de l'Université de Lausanne, Messerli (1) provoqua des goitres chez les rats blancs alimentés avec de l'eau de Payerne, eau d'origine superficielle et très infectée. En 1923-1924 il obtint des résultats identiques en alimentant des rats blancs au moyen d'une bouillie passée ensuite à travers des matières fécales humaines (2).

En 1914, Grassi, de passage à Lausanne et examinant les préparations résultant des premières recherches de Messerli (3), eut l'impression que les thyroïdes considérées à Lausanne comme normales étaient hypertrophiées par rapport à celles des rats de Rome et il constata après étude comparative que « les thyroïdes des rats de Lausanne et de Heidelberg étaient plus volumineuses que celles des rats de Rome (4) ».

B. Grassi et M. Miraldi constatèrent aussi que des rats provenant de régions indemnes de goitres et placés dans un foyer à endémie goitreuse acquéraient des goitres, quoique alimentés au moyen d'eau et de pain provenant de régions non goitreuses; tandis que Hirschfeld et Klinger (5) ne réussirent pas à provoquer de goitre chez des rats placés dans une région sans goitre et alimentés avec de l'eau de région goitreuse.

Th. Langhans et C. Wegelin (6) ont fait de nombreuses recherches surtout histologiques sur la thyroïde des rats de diverses régions de la Suisse et alimentées avec différentes eaux et même avec du lait.

Telles sont les principales recherches faites jusqu'à ce jour sur le goitre des rats blancs.

(1) « Le goitre endémique », Lausanne, 1916. *Centralb. für Bakter. Art. I. Orig.*, 1914, p. 211 et 219.

(2) En publication dans la *Centralb. für Bakter.*

(3) Ces préparations sont visibles au musée d'hygiène de l'Université de Lausanne.

(4) *Ann. d'lg. Speriment.*, 25, 1915, p. 321-341.

(5) *Archiv für Hyg.*, 85, 1916, p. 139-189; 86, 1917, p. 212-217.

(6) TH. LANGHANS et C. WEGELIN. *Der Kropf der weissen Ratte*, Berne, 1919.

*
* *

En dehors des recherches de Th. Langhans et C. Wegelin qui, pratiquées en Suisse, portèrent sur des rats provenant surtout de zones à endémie goitreuse, seuls B. Grassi et

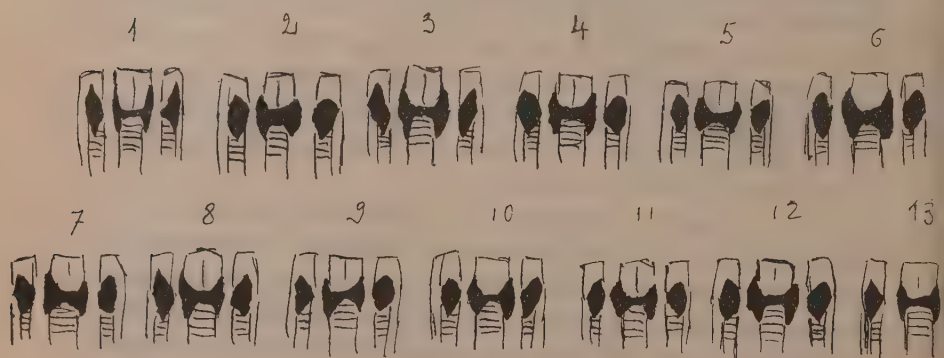


FIG. 1. — Dessin au compas des corps thyroïdes des rats de Paris (grandeur naturelle).

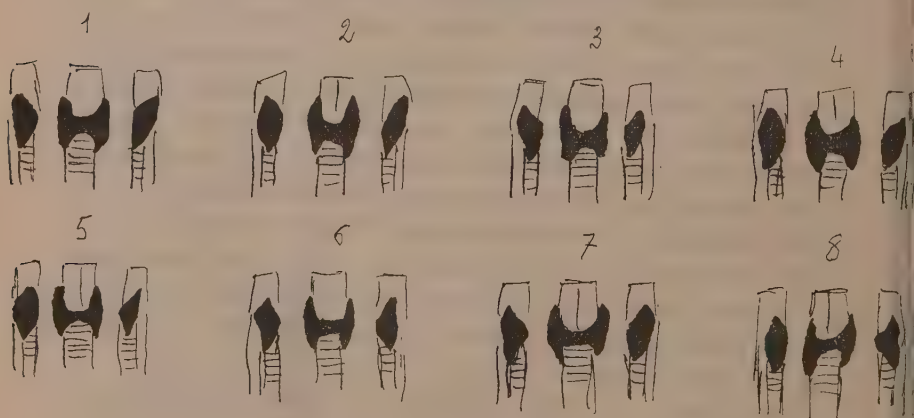


FIG. 2. — Dessin au compas des corps thyroïdes des rats de Strasbourg (grandeur naturelle).

M. Miraldi ont entrepris une étude comparative des corps thyroïdes de rats provenant, soit de régions goitrigènes, soit de régions indemnes; mais ces études, effectuées sur un petit nombre de rats, 5 de Lausanne et 5 de Heidelberg, méritaient d'être reprises.

Nos recherches ont porté sur 13 rats de Paris, 8 de Strasbourg, 17 de Lausanne et 6 de Zurich.

Nous avons fait l'autopsie détaillée de chacun de ces rats en



FIG. 3. — Dessin au compas des corps thyroïdes des rats de Lausanne (grandeur naturelle).



FIG. 4. — Dessin au compas des corps thyroïdes des rats de Zurich (grandeur naturelle).

détachant la thyroïde fixée à la trachée et à l'œsophage. Dès les premières autopsies nous avons été surpris de constater des différences considérables entre le volume des thymus des rats



FIG. 5. — Corps thyroïdes des rats de Paris.



FIG. 6. — Corps thyroïdes des rats de Strasbourg.



FIG. 7. — Corps thyroïdes des rats de Lausanne.



FIG. 8. — Corps thyroïdes des rats de Zurich.

TABLEAU I.

NUMÉRO	POIDS du rat en grammes	POIDS du corps thyroïde en milligrammes	LARGEUR du lobe droit en millimètres	LARGEUR du lobe gauche en millimètres	LARGEUR du corps thyroïde en millimètres	ÉPAISSEUR du lobe droit en millimètres	ÉPAISSEUR du lobe gauche en millimètres	HAUTEUR du lobe droit en millimètres	HAUTEUR du lobe gauche en millimètres	VOLUME schématique
<i>Rats de Paris.</i>										
1.	139	16,5	1	1,5	5,5	2,5	3	7,5	7	109,65
2.	198	23	1,5	2,5	6	3	3,5	6	5,5	141,37
3.	148	22,5	2	2	7	3	2,5	7,5	7	139,56
4.	145	28,75	1,5	1,5	6	3	3	6,5	6	112,50
5.	138	19,75	2	1,5	6	2,5	2,5	5	4	67,50
6.	162	33,5	2	2	7	2,5	3,5	6	5,5	111,68
7.	132	18,5	2,5	1,5	6	3	2,5	5,5	5,5	80,62
8.	130	25,5	2,5	1,5	6	3	3	7,5	5,5	117,00
9.	180	5	2	1,5	5,5	2,5	3	5	4,5	64,14
10.	137	16	2,5	2	6,5	2,5	3	5	5,5	87,34
11.	142	18,5	2,5	1,5	6	2,5	2,5	5	5	75,00
12.	170	6,5	2,5	2	7	2,5	3	5,5	4,5	96,25
13.	165	22,5	1,5	1	5,5	2,5	2	5,5	5	63,31
Moyenne.	182,80	19,75								97,38
<i>Rats de Strasbourg.</i>										
1.	170	29	2	2,5	7	3,5	3,5	7,5	7,5	183,75
2.	223	51	2	2,5	7,5	3,5	3,5	8	9	224,12
3.	173	35,5	3	2	6,5	3,5	3	7,5	7	153,15
4.	148	33	3	2,5	8	4	3,5	8,5	7,5	240,00
5.	138	21	2	2	7	3,5	3	7	7	159,95
6.	130	32	2	2	7	4	3	7,5	7,5	183,75
7.	128	39,5	2,5	2,5	8	4	4	8	7,5	248,00
8.	190	12,5	2,5	2,5	7	3,5	3,5	7,5	7,5	183,75
Moyenne.	162,50	31,60								195,80
<i>Rats de Lausanne.</i>										
1.	194	43	3,5	2,5	7,5	3,5	3,5	6	8	176,25
2.	172	15,75	2	2	5,5	2,5	3	7,5	7	109,65
3.	185	59	3,5	3	8,5	3,5	3,5	8	6	208,25
4.	182	40	3	2,5	7	3,5	3,5	6,5	8,5	164,50
5.	183	63	3	3	8	4	4	7,5	7,5	240,00
6.	192	31,25	3	2	6,5	3	3	7	6	126,75
7.	172	22,75	1,5	1,5	5	3	2	6	5,5	70,87
8.	217	57	3,5	1,5	5	5	1,5	8,5	3,5	105,00
9.	148	55	3	2,5	7	3	3	7,5	6	138,25
10.	187	24	2,5	2,5	7,5	3	3	7	7	225,00
11.	178	19	2,5	2,5	7	3,5	3	8	7	170,62
12.	123	18,25	2	2	5,5	3	2,5	6	5	113,43
13.	193	20,5	2	1,5	6,5	3	3	6	7	126,75
14.	210	23	3	1,5	7	3,5	2,5	7	7	147,00
15.	190	11	2,5	2	6,5	3	3	7	7	195,00
16.	198	26,5	2	1,5	6	4	3	6,5	6,5	136,50
17.	185	25	2	1,5	6	4	3,5	5,5	6	128,17
Moyenne.	182,8	32,6								151,88

Le volume schématique est calculé en multipliant la largeur des lobes + l'isthme par l'épaisseur et la hauteur de ces mêmes lobes.

NUMÉRO	POIDS du rat en grammes	POIDS du corps thyroïde en milligrammes	LARGEUR du lobe droit en millimètres	LARGEUR du lobe gauche en millimètres	LARGEUR du corps thyroïde en millimètres	ÉPAISSEUR du lobe droit en millimètres	ÉPAISSEUR du lobe gauche en millimètres	HAUTEUR du lobe droit en millimètres	HAUTEUR du lobe gauche en millimètres	VOLUME schématique
<i>Rats de Zurich.</i>										
1	185	28	2,5	3	8	4	4,5	8	9	272,48
2	190	68,5	3	4	8,5	5	4	8,5	8,5	325,12
3	192	103	3	4	9	5,5	4,5	11	11	495,00
4	140	32,5	2,5	3	8	4	4	9	9	288,00
5	162	59	4	3	9	5	4	8,5	8,5	344,25
6	187	46	4	3	9	5	5	9	10	427,50
Moyenne.	176	56,16								358,73
<i>En résumé.</i>										
	POIDS MOYEN en grammes		POIDS MOYEN du corps thyroïde en milligrammes		VOLUME MOYEN de la thyroïde					
Rats de Paris	182,85		19,75		97,38					
Rats de Strasbourg . . .	162,50		31,60		195,80					
Rats de Lausanne . . .	182,80		32,60		151,88					
Rats de Zurich	176,00		56,16		358,73					

TABLEAU II. — Thyroïde et thymus.

POIDS du rat en grammes	POIDS du corps thyroïde en centigrammes	POIDS du thymus en centigrammes
<i>Rats de Paris.</i>		
180	5	109
137	16	101
142	18,5	96
170	6,5	41
165	21,5	97
148	22,5	87,5
Moyenne : 158,66	15,0	88,6

POIDS du rat en grammes	POIDS du corps thyroïde en centigrammes	POIDS du thymus en centigrammes	
<i>Rats de Strasbourg.</i>			
170	29	126	
223	51	209	
173	35,5	127	
148	33	187	
138	21	87	
190	42,5	161	
130	32	116	
128	39,5	112,5	
Moyenne : 162,5	31,7	141,9	
<i>Rats de Lausanne.</i>			
187	24	181,5	
178	19	108,5	
123	18,25	114,5	
193	20,5	126,5	
210	23	149	
190	11	85	
198	26,5	165	
185	25	112,5	
Moyenne : 183	20,90	130,3	
<i>Rats de Zurich.</i>			
185	28	403	
190	68,5	390	
192	103	185	
140	32,5	204	
162	59	270	
187	46	309,5	
Moyenne : 176	56,16	293,6	
<i>En résumé.</i>			
	POIDS MOYEN du corps en grammes	POIDS MOYEN du corps thyroïde	POIDS MOYEN du thymus
Rats de Paris.	158,66	15,0	88,6
Rats de Strasbourg. . .	162,5	31,7	141,9
Rats de Lausanne . . .	183,0	20,9	130,3
Rats de Zurich	176,0	56,16	293,6

de différentes régions, nous avons donc isolé cet organe afin de le peser et d'en pratiquer l'examen histologique.

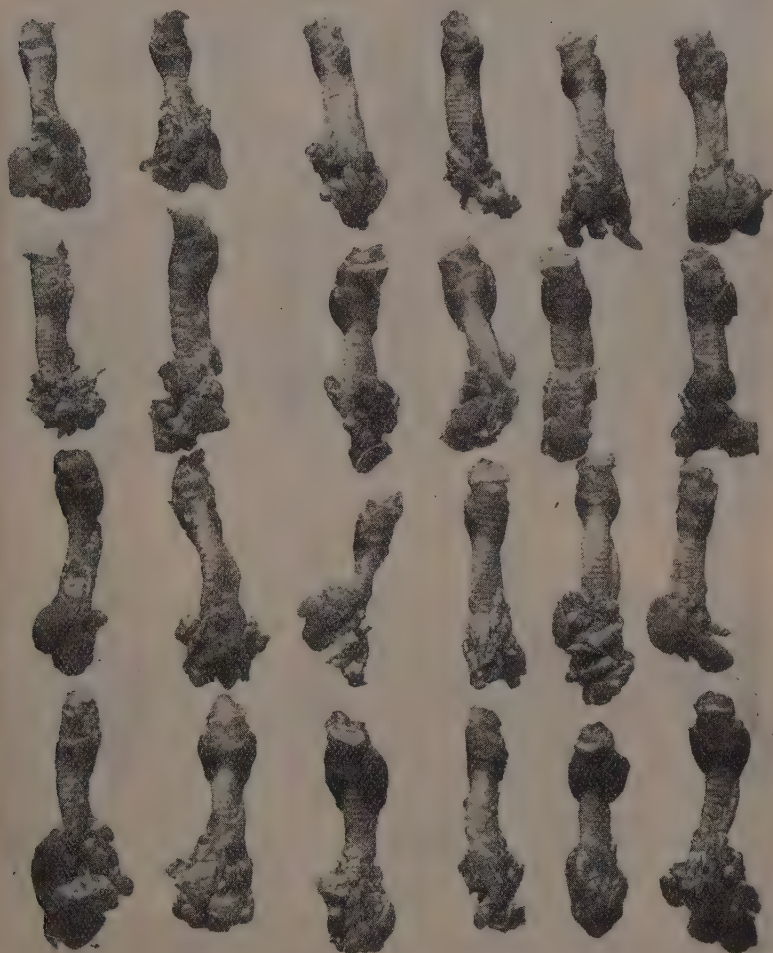


FIG. 9. — Photographie des corps thyroïdes et thymus des rats de Paris, première rangée : 6 exemplaires; de Strasbourg, deuxième rangée : 6 exemplaires; de Lausanne, troisième rangée : 6 exemplaires; de Zurich, quatrième rangée : 6 exemplaires.

Voici, sous forme de tableaux, les résultats de nos observations (tableaux I et II).

Les chiffres ci-dessus, comme les photographies et dessins des thyroïdes de ces rats, permettent de constater une différence très nette entre le volume et le poids des thyroïdes des rats de Paris, de Strasbourg, de Lausanne et de Zurich.

Les corps thyroïdes des rats de Paris, région indemne d'endémie goitreuse, sont petits et réguliers et ont environ la moitié



FIG. 10. — Photographie des corps thyroïdes et thymus des rats de Paris (nos 1 et 2); de Strasbourg (nos 3 et 4); de Lausanne nos 5 et 6) et de Zurich (nos 7 et 8). Les rats des nos 1, 3, 5 et 7 avaient à peu près le même poids de corps ainsi que les nos 2, 4, 6 et 8.

du volume et du poids de ceux des rats de Strasbourg et de Lausanne, où règne une endémie légère; tandis que les thyroïdes des rats de Zurich, région à forte endémie, sont très irrégulières et trois à quatre fois plus volumineuses que celles des rats de Paris.

Ces observations confirment celle de B. Grassi et M. Miraldi (1) que nous avons précédemment citées.

(1) *Ann. d'Ig. Sper.*, 25, fasc. III, 1915, p. 339.

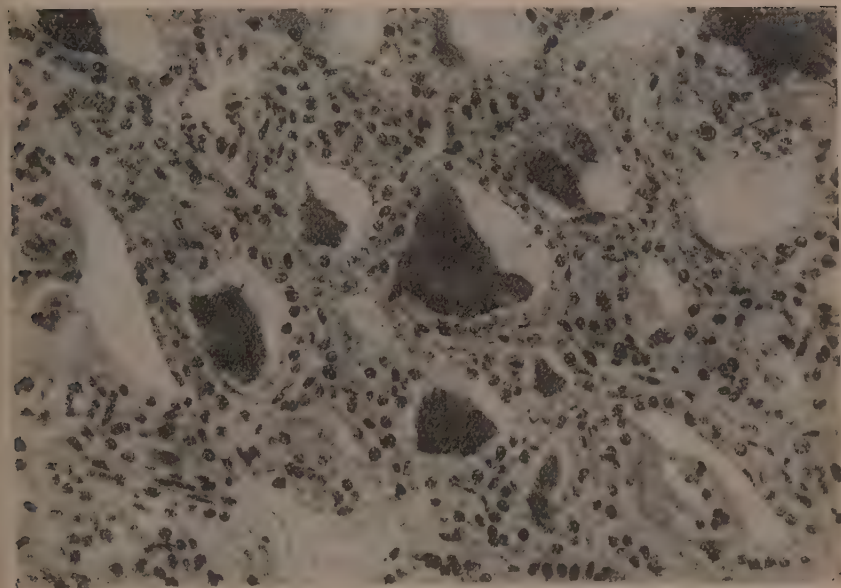


FIG. 11. — Corps thyroïde d'un rat de Paris (Grossissement 300 diamètres).

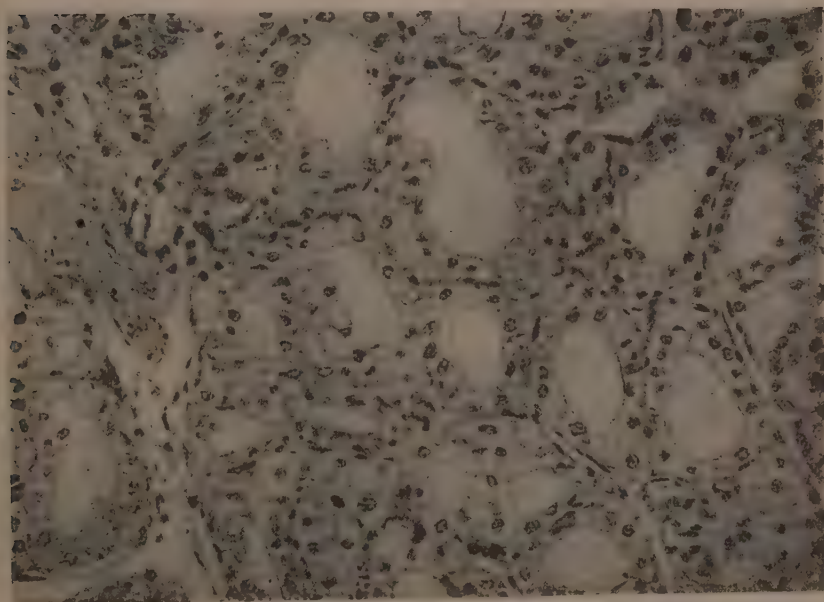


FIG. 12. — Corps thyroïde d'un rat de Strasbourg (Grossissement 300 diamètres).

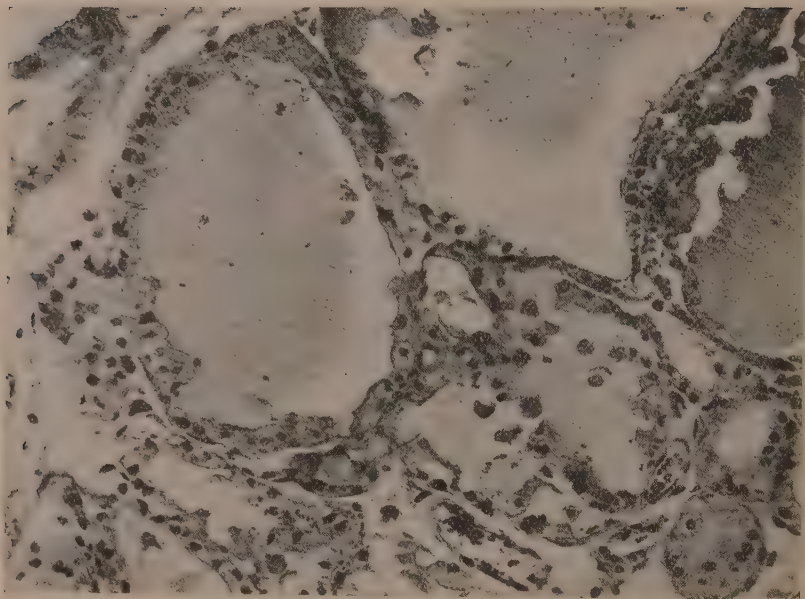


FIG. 13.

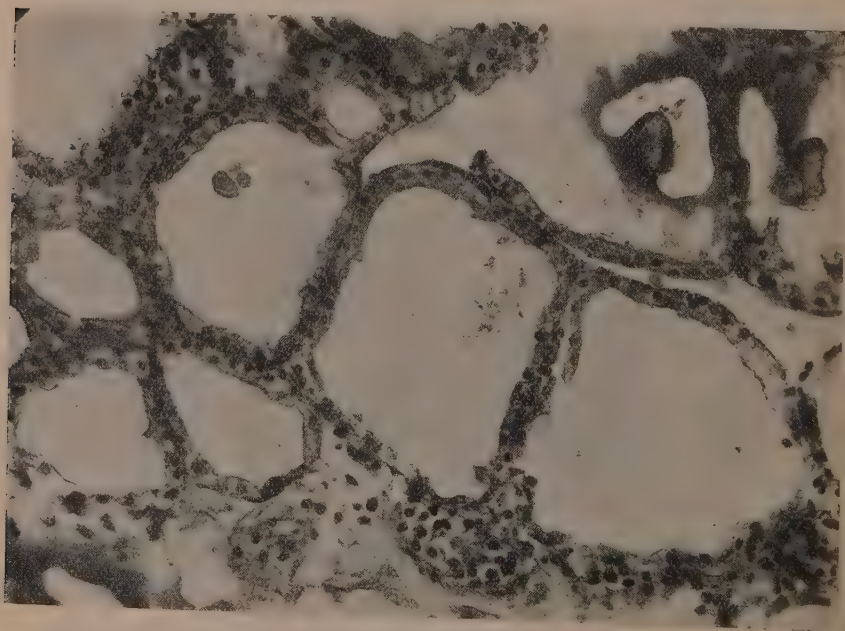


FIG. 14.

FIG. 13 et 14. — Corps thyroïde de deux rats de Lausanne
(Grossissement 300 diamètres).

Quant aux thymus, nous avons également constaté que cette glande était nettement plus petite chez les rats de Paris, une fois et demie plus grande chez les rats de Strasbourg et de Lausanne, et au moins trois fois plus volumineuse chez ceux de Zurich.

Il existe donc une sorte de parallélisme entre le développement de la glande thyroïde et du thymus chez les rats blancs. Cette observation fort importante nous permet de penser qu'il serait bon de compléter les recherches sur la glande thyroïde par des recherches sur le thymus, deux organes intimement liés dans leurs fonctions. Wagner von Jauregg (1) avait d'ailleurs déjà constaté que la médication thymique associée à la médication thyroïdienne donnait d'excellents résultats pour le traitement prophylactique du goître endémique et du crétinisme.

Nous avons complété nos recherches par l'examen de la rate, du foie et des capsules surrénales de chaque rat. Ces recherches ne nous ont donné aucun résultat intéressant, le volume et le poids de ces organes ne présentèrent pas de variations suivant les séries de rats.

L'examen histologique des corps thyroïdes et du thymus de tous ces animaux nous a permis de faire les constatations suivantes :

CORPS THYROÏDES.

RATS DE PARIS. — Chez tous les animaux la glande présente un aspect analogue. Vésicules de dimensions moyennes, peu d'îlots cellulaires. Colloïde peu abondante, mais dense, bien rétractée, très homogène et prenant fortement l'éosine. Cellules thyroïdiennes cubiques ou aplaties.

RATS DE STRASBOURG ET DE LAUSANNE. — Follicules thyroïdiens de dimensions très inégales. Certains groupes de vésicules, très hypertrophiées, semblent constituer l'amorce de kystes (fig. 13 et 14).

La substance colloïde n'est pas homogène. La plupart des vésicules semblent vides. D'autres contiennent une substance grenue, basophile.

(1) WAGNER VON JAUREGG. *Wiener medizinische Wochenschrift*, 73, n° 47, 17 novembre 1923.

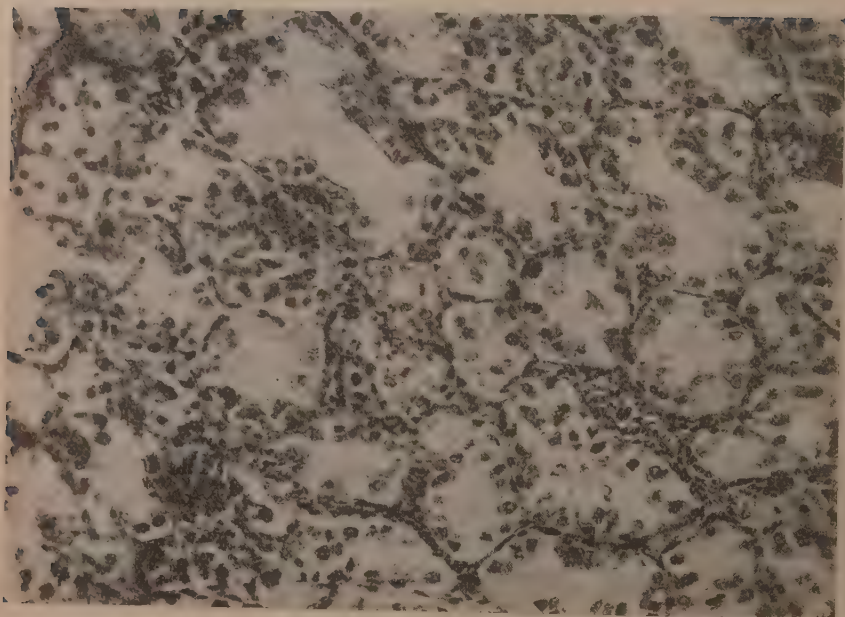


FIG. 15.

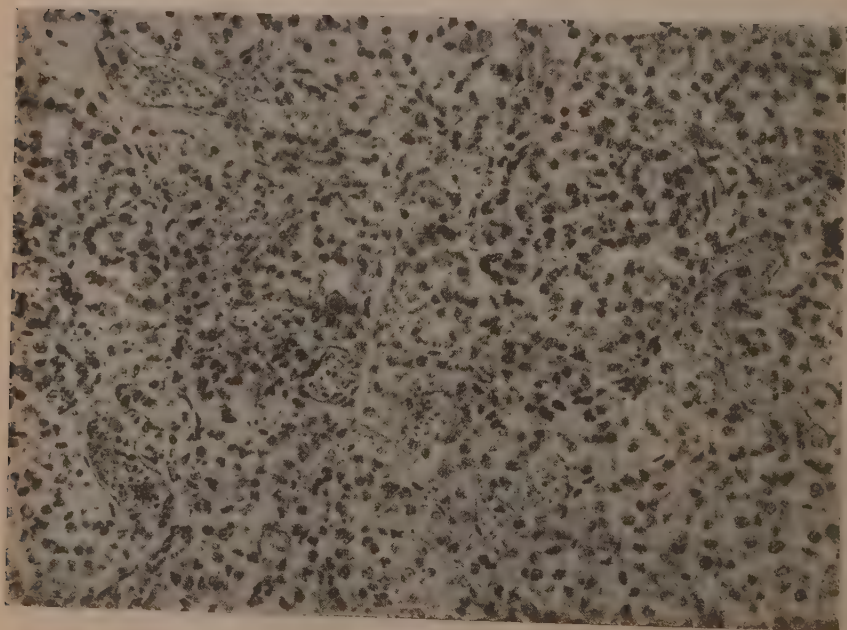


FIG. 16.

FIG. 15 et 16. — Corps thyroïde des rats de Zurich.

Cellules cubiques, en certains points même assez hautes, peu de vésicules rétractées.

RATS DE ZÜRICH. — A part un cas où le corps thyroïde rappelait en entier les adénomes fœtaux (fig. 16), nous avons noté chez tous les rats une structure identique : Vésicules de dimensions moyennes ne semblant pas contenir de substance colloïde. Nombreuses cellules thyroïdiennes semblant en voie de dégénérescence. Les unes, desquamées, occupent la cavité de la vésicule thyroïdienne ; d'autres, seules ou en groupes, adhèrent encore à la paroi des vésicules. Certaines de ces cellules isolées sont nettement cylindriques. Cet aspect a d'ailleurs été décrit longuement dans un travail de Langhans et Wegelin (1).

THYMUS.

RATS DE PARIS. — Le thymus est à peu près normal avec un réticulum épithélial peu développé. Les corps de Hassal sont très rares. On note des cellules granuleuses éosinophiles en assez grand nombre.

RATS DE STRASBOURG. — Chez tous les rats de Strasbourg, le réticulum épithélial paraît assez développé, mais d'une façon générale le thymus est à peu près normal, sauf chez un animal. Chez un rat, en effet, le thymus a un réticulum épithélial très riche dans lequel on note, semées çà et là, des cavités glandulaires isolées bordées de cellules épithéliales. Il ne s'agit pas là de corpuscules de Hassal. Nous reviendrons plus longuement sur ces formations en décrivant les thymus des rats de Zurich et de Lausanne.

RATS DE LAUSANNE. — Nous avons trouvé ces thymus très riches en éosinophiles migrants ; très pauvres en corpuscules de Hassal. Deux de ces thymus contenaient de très nombreux macrophages contenant de nombreux débris de petites cellules thymiques.

(1) LANGHANS et WEGELIN. *Der Kropf der weissen Ratte*. Berne, 1919, planches II, VI et VII.

Le réticulum épithélial était assez développé, mais le fait curieux dans l'étude de ces thymus était la présence, chez 6 animaux sur 17 (3, 8, 10, 11, 12), de cavités d'aspect glandulaire, bordées par des cellules épithéliales rappelant les cellules du réticulum épithélial. Chez un animal, il existait un groupement de ces cavités glandulaires en plein tissu

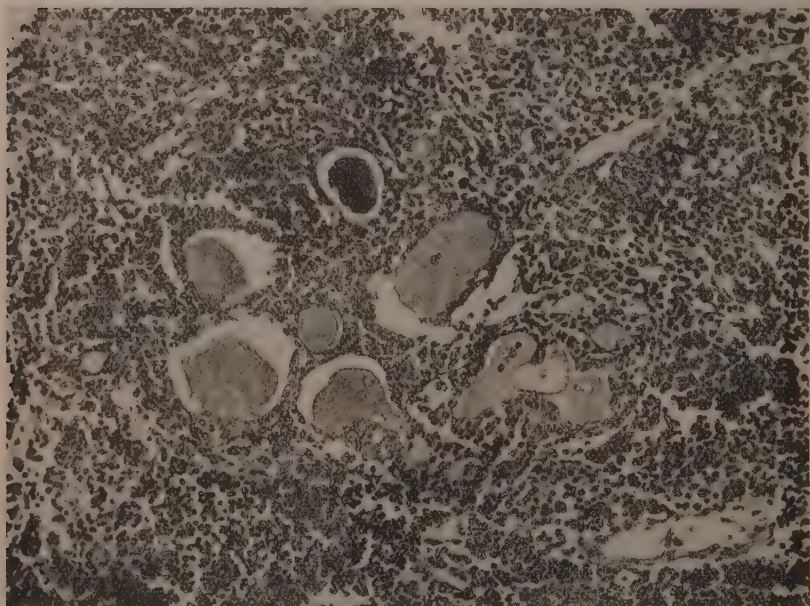


FIG. 17. — Thymus d'un rat de Lausanne (Grossissement 200 diamètres).

d'aspect lymphoïde et les petites cellules thymiques semblaient s'organiser autour de la cavité glandulaire. Une substance assez dense, fortement éosinophile, rappelant la colloïde thyroïdienne, occupait ces cavités.

En certains points de la paroi de ces cavités glandulaires existaient des cellules épithéliales nettement différenciées et, à ce niveau, la substance colloïde paraissait plus dense. On avait l'impression d'assister à la transformation des petites cellules thymiques en cellules épithéliales (fig. 17).

RATS DE ZÜRICH. — Les thymus ressemblent aux thymus des

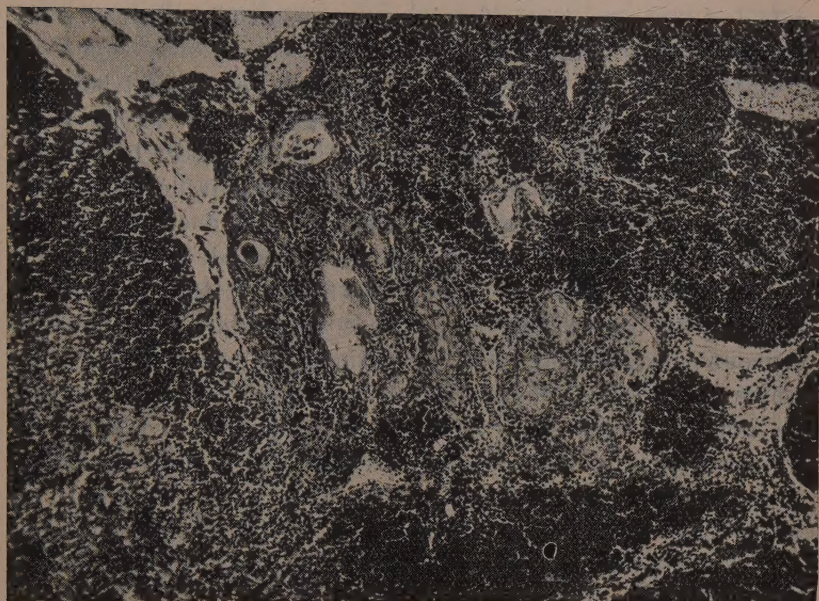


FIG. 18.

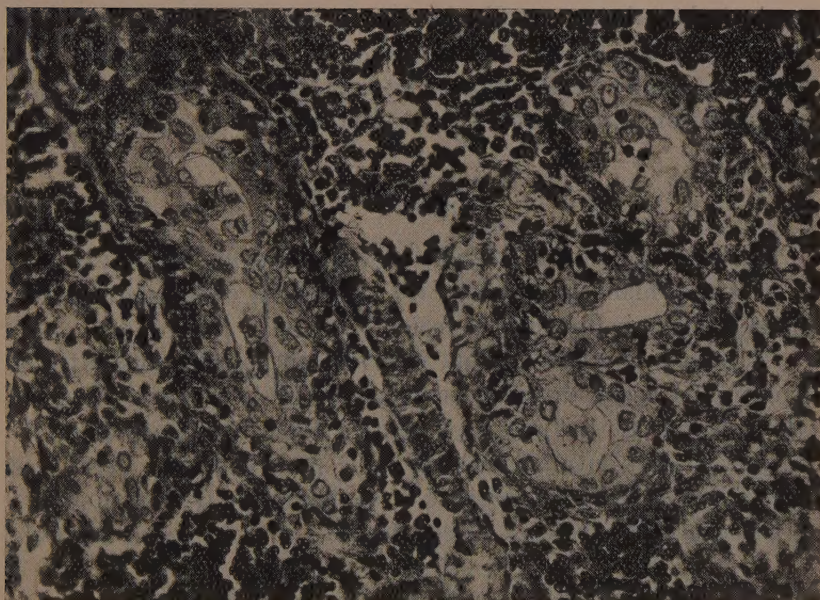


FIG. 19.

FIG. 18 et 19. — Thymus d'un rat de Zurich (Grossissement 100 et 300 diamètres).

rats de Lausanne et, sur 6 animaux, nous avons retrouvé trois fois des cavités glandulaires.

Dans un cas (n° 2), les cavités glandulaires étaient bordées par un épithélium hautement différencié (fig. 18 et 19) : cellules riches en protoplasma, cubiques, assez hautes, à noyau basal. La cavité glandulaire contenait des éléments épithéliaux nécrosés, mais, à quelque distance, une petite vésicule rappelant parfaitement une vésicule thyroïdienne contenait de la colloïde éosinophile (fig. 18 et 19).

Comment interpréter ces cavités glandulaires ? Nous ne croyons pas qu'il s'agisse de formations kystiques analogues à celles décrites par Dustin chez les reptiles (1) : il n'existe pas de bordures ciliées, le contenu des cavités kystiques ne présente aucune des réactions du collagène ; elles semblent formées aux dépens des petites cellules thymiques. Il est à noter que Cheval (2), étudiant les kystes thymiques chez les reptiles, attribuait leur formation aux petites cellules thymiques.

Nous pensons qu'il s'agit là de métaplasies aboutissant à la formation de véritables vésicules thyroïdiennes, pouvant contenir de la substance colloïde caractéristique, et nous pensons que ces métaplasies, surtout fréquentes chez les rats des régions à goîtres endémiques, ne sont que la conséquence des perturbations du système thymo-thyroïdien.

CONCLUSIONS.

De ces recherches se dégagent les conclusions suivantes :

1° Le rat blanc paraît bien être l'animal de choix pour l'étude de la pathologie du corps thyroïde.

2° Dans une même région, il existe un parallélisme entre le volume du corps thyroïde de l'homme et le volume du corps thyroïde du rat. Les rats des contrées exemptes de goitre endémique (Paris) ont un corps thyroïde plus petit que celui des rats vivant dans des régions à endémie goitreuse modérée (Lausanne, Strasbourg), et ces derniers ont un corps thyroïde

(1) DUSTIN, Le thymus de l'axolotl. *Archives de Biologie*, 16, 1911.

(2) CHEVAL, Recherches sur les lymphocytes du thymus. *Bibl. anat.*, 17, 1908.

infiniment plus petit que celui des rats vivant en région fortement goitrigène (Zurich). Il existe d'ailleurs chez le rat vivant dans ces régions des modifications histologiques rappelant celles qu'on observe dans le goitre humain.

3° Le thymus des rats paraît subir également en région goitrigène une hypertrophie parallèle à l'hypertrophie thyroïdienne. Dans ces thymus hypertrophiés, on note même souvent des formations épithéliales vésiculaires nées des petites cellules thymiques, et ces formations rappellent les vésicules thyroïdiennes. L'étude du thymus en région goitrigène serait donc à reprendre à la lumière de ces données. La diversité des opinions concernant la durée de la persistance du thymus humain est probablement le fait d'observations faites dans des régions où sévit ou non l'endémie goitreuse.

*(Travail du laboratoire du professeur Calmette
à l'Institut Pasteur.)*

Le Gérant : G. MASSON.

